UNIVERSITÉ DE NANCY — FACULTÉ DE MÉDECINE

ANNÉE 1965 — N° 38

LES VIRUS COXSACKIE B

Etude virologique

Pouvoir pathogène et Epidémiologie

THÈSE

présentée et soutenue publiquement

le 22 Mai 1965

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

par

Jacqueline DUPUIS

née MASSONI, le 20 Mars 1936, à CHAMPIGNEULLES (M.-et-M.)

Diplômée de Sérologie, d'Hématologie,
de Bactériologie médicale et technique

Examinateurs de la Thèse : MM. de LAVERGNE, *Professeur* ..... Président

NEIMANN, *Professeur*

MANCIAUX, *Maître de Conf. Agrégé* } Juges

BURDIN, *Maître de Conf. Agrégé*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555002_0026

UNIVERSITÉ DE NANCY — FACULTÉ DE MÉDECINE

ANNÉE 1965 — N° 38

LES VIRUS COXSACKIE B

Etude virologique
Pouvoir pathogène et Epidémiologie

THÈSE

présentée et soutenue publiquement

le 22 Mai 1965

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

par

Jacqueline DUPUIS

née MASSONI, le 20 Mars 1936, à CHAMPIGNEULLES (M.-et-M.)

Diplômée de Sérologie, d'Hématologie,
de Bactériologie médicale et technique

Examinateurs de la Thèse : MM. de LAVERGNE, *Professeur* ..... Président

NEIMANN, *Professeur*

MANCIAUX, *Maître de Conf. Agrégé* } Juges

BURDIN, *Maître de Conf. Agrégé* }

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Doyen : M.-A. BEAU

Assesseur : M.-J. ROUSSEL

Doyens Honoraires

MM. LUCIEN, PARISOT, SIMONIN

Professeurs Honoraires

MM. JEANDELIZE, SANTENOISE, CHAILLEY-BERT, HAMANT, BINET, MUTEL, FRANCK, MELNOTTE, VERMELIN, GUILLEMIN, HOUPERT

Professeurs

Anatomie	N...
Anatomie pathologique	M. FLORENTIN
Chimie biologique	M. WOLFF
Bactériologie et parasitologie	M. HELLUY
Clinique chirurgicale A	M. CHALNOT
Clinique chirurgicale B	M. BODART
Clinique chirurgicale infantile	M. BEAU
Clinique dermato-syphiligraphique	M. BEUREY
Clinique gynécologique	M. BERTRAND
Clinique médicale A	M. HERBEUVAL
Clinique médicale B	M. KISSEL
Clinique de neurologie et psychiatrie	M. ARNOULD G.
Clinique de pédiatrie et puériculture	M. NEIMANN
Clinique obstétricale	M. HARTEMANN J.
Clinique ophtalmologique	M. THOMAS
Clinique oto-rhino-laryngologique	M. GRIMAUD
Clinique rhumatologique	M. LOUYOT
Clinique stomatologique	M. GOSSEREZ
Clinique de pneumo-phtisiologie	M. LAMY
Clinique des voies urinaires	N...
Clinique de neuro-chirurgie	M. LEPOIRE
Electro-radiologie clinique	M. ROUSSEL
Embryologie	M. DOLLANDER
Histologie	M. LEGAIT
Hydrologie thérapeutique et pharmacologie	M. LAMARCHE
Hygiène et médecine sociale	M. SENAULT
Médecine légale	M. HEULLY
Médecine du travail et réadaptation	M. PIERQUIN
Pathologie chirurgicale	M. LOCHARD
Pathologie médicale	M. HARTEMANN P.

Physiologie	M. ARNOULD P.
Physio-pathologie respiratoire	M. SADOUL
Physique	M. BURG
Thérapeutique	M. FAIVRE
Séméiologie chirurgicale	M. SOMMELET

Professeurs à titre personnel

MM. de LAVERGNE, BREHANT, DUREUX, RAUBER

Professeurs sans chaire

MM. CORDIER, RICHON, GROSS

Agrégés pérennisés

Médecine	M. LARCAN
Obstétrique	M. RIBON

Maîtres de conférences agrégés

Anatomie	M. CAYOTTE
Carcinologie	M. CHARDOT
Chimie	M. PAYSANT
Chimie	M. NABET
Hématologie	M. STREIFF
Histologie	M. GRIGNON
Hygiène	M. DEBRY
Hygiène	M. FOLIGUET
Pathologie expérimentale	M. LACOSTE
Pharmacologie	N...
Physique	M. MARTIN
Physiologie	M. BOULANGE
Physiologie	M. BOUVEROT
Physiologie	M. BOURA
Bactériologie	M. BURDIN
Electroradiologie	M. ANTOINE
Electroradiologie	Mme TREHEUX
Pédiatrie et puériculture	M. PIERSON
Pédiatrie et puériculture	M. MANCIAUX
Médecine	M. SCHMITT
Neurologie et psychiatrie	M. TRIDON
Maladies infectieuses	N...
Médecine légale	M. de REN
Médecine et thérapeutique	M. GRILLIAT
Médecine et thérapeutique	M. BABEAU
Médecine et thérapeutique	M. CUNY
Médecine et thérapeutique	M. GAUCHER
Médecine et thérapeutique	M. GILGENKRANTZ

Agrégés en exercice

Chirurgie	M. BENICHOUX
Chirurgie	M. MICHON J.
Chirurgie	M. GROSDIDIER
Chirurgie	M. PREVOT
Chirurgie	M. VICHARD
Chirurgie	M. FRISCH
Médecine	M. HURIET
Médecine légale et médecine du travail	M. PERNOT
Neurologie et psychiatrie	M. LAXENAIRE
Ophtalmologie	M. ALGAN
Oto-Rhino-Laryngologie	M. WAYOFF
Urologie	M. GUILLEMIN

Agrégés libres

MM. ANDRE, ARNULF

Secrétaire : M. SEUROT

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver, ni les improuver.

A notre Président de Thèse,

MONSIEUR LE PROFESSEUR DE LAVERGNE,

Professeur à titre personnel

Vous nous avez confié ce travail. Vous en avez suivi la réalisation, nous dirigeant de votre haute compétence, avec un souci de rigueur scientifique et de précision de la forme n'excluant pas une attentive bienveillance.

Vous nous faites le grand honneur de nous accueillir dans votre Laboratoire.

Que cette thèse, dont vous avez bien voulu accepter la présidence, soit le témoignage de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A nos Juges,

Monsieur le Professeur NEIMANN,

Professeur de Clinique de Pédiatrie et Puériculture

Connaissant vos éminentes qualités de clinicien et d'érudit, c'est pour nous un très grand honneur de vous compter parmi les membres de ce jury.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre haute et respectueuse considération.

Monsieur le Professeur Agrégé MANCIAUX,

Maître de Conférences, Agrégé de Pédiatrie et Puériculture

Vous avez bien voulu nous conseiller dans la réalisation des travaux cliniques de cette thèse. Nous vous remercions de l'intérêt que vous y avez porté. Vos critiques autant que vos conseils nous ont été fort précieux et ont grandement facilité notre travail.

Nous tenons à vous exprimer ici toute notre reconnaissance.

Monsieur le Professeur Agrégé BURDIN,

Maître de Conférences, Agrégé de Bactériologie

Votre haute compétence de Biologiste et votre grande bonté sont connues de tous. Nous vous sommes très reconnaissants d'avoir accepté de juger notre thèse.

Avec notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur FASQUELLE,

Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine de Paris

Nous avons eu le privilège d'être votre élève. Vous avez su nous faire découvrir l'intérêt de la Microbiologie, qui est à la source de ce travail.

Nous gardons un souvenir reconnaissant des heures passées dans votre Laboratoire, qui nous ont permis d'apprécier la richesse de votre enseignement, votre haute érudition et l'agrément de votre personnalité.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici, avec notre profonde gratitude, notre respectueuse admiration.

A Monsieur le Docteur GEORGES,

Médecin-Assistant des Hôpitaux, Assistant à la Faculté

Avec nos remerciements pour ses conseils avisés et amicaux.

A Mademoiselle LE MOYNE.

Qui veut bien nous faire profiter, chaque jour, de sa grande expérience. Avec tous nos remerciements pour son aide bienveillante.

A tous nos MAITRES.

Avec notre reconnaissance.

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

SERMENT

SUR MA CONSCIENCE, EN PRESENCE DE MES MAITRES ET DE MES CONDISCIPLES, JE JURE D'EXERCER LA MEDECINE SUIVANT LES LOIS DE LA MORALE ET DE L'HONNEUR, ET DE PRATIQUER SCRUPULEUSEMENT TOUS MES DEVOIRS ENVERS LES MALADES, MES CONFRERES ET LA SOCIETE.

INTRODUCTION

Depuis leur découverte par DALLDORF et Miss SICKLES en 1947, les virus Coxsackie ont fait l'objet de nombreux travaux. Réalisés dans différents pays, mais surtout aux Etats-Unis, ils ont permis, grâce aux progrès de la technique virologique, de préciser leurs propriétés biologiques, leur pathologie, leur épidémiologie.

En France, cette étude n'a pas connu la même faveur et les publications sont peu nombreuses et fragmentaires, sans doute parce que notre pays n'a pas subi de vastes épidémies comme l'Amérique et certains pays anglo-saxons et européens.

Ces virus appartiennent au groupe des Entérovirus. Caractérisés par leur pouvoir pathogène expérimental pour le souriceau nouveau-né, ils ont été classés en deux groupes A et B, suivant la nature et la localisation des lésions qu'ils provoquent chez cet animal. L'avènement, puis la pratique de plus en plus fréquente d'une virologie clinique au cours de ces dernières années, a permis de leur attribuer, chez l'homme, la responsabilité de syndromes cliniques variés.

Nous avons eu l'occasion, pour notre part, d'étudier plusieurs cas d'infections à virus Coxsackie. Nos observations provenaient de différents Services du Centre Hospitalier Régional de Nancy, plus particulièrement de la Clinique Médicale Infantile et du Service des Maladies Contagieuses. L'isolement et le typage des virus, les études sérologiques, ont été réalisés à la Section de Virologie du Laboratoire Central de Microbiologie.

Toutes ces affections ont été provoquées par des virus Coxsackie du groupe B. Ils feront seuls l'objet de notre étude.

Après un bref rappel historique, nous décrirons les propriétés biologiques des virus Coxsackie B. Nous rappellerons ensuite leurs diverses manifestations pathologiques, puis leur épidémiologie et la physiopathogénie de l'infection. Nous envisagerons enfin le diagnostic et, brièvement, le pronostic et le traitement.

HISTORIQUE

En 1947, Dalldorf, à la recherche d'une technique plus simple et moins coûteuse pour l'isolement des virus poliomyélitiques, jusqu'alors réalisé par inoculation au singe, et connaissant l'existence de souches poliomyélitiques pathogènes pour certains rongeurs et la sensibilité particulière des très jeunes animaux, fut amené à utiliser le souriceau nouveau-né. Cette nouvelle technique devait être à l'origine de la découverte des virus Coxsackie.

En effet, lors d'une petite épidémie de poliomyélite qui survint en automne 1947 dans le village de Coxsackie (Etat de New-York), Dalldorf et Miss Sickles isolèrent à partir des selles de deux enfants atteints de paralysies un agent filtrable et transmissible en série, différent du virus poliomyélitique, non pathogène pour le singe et la souris adulte, mais tuant le souriceau et le hamster nouveau-nés en quelques jours avec des lésions musculaires évidentes (56).

Très rapidement d'autres souches, présentant les mêmes caractéristiques, mais différentes du point de vue antigénique, furent isolées dans plusieurs pays. Certaines se montrèrent capables de provoquer chez le souriceau, non seulement une dégénérescence des muscles striés, mais aussi des lésions du système nerveux et du tissu adipeux. C'est pourquoi Dalldorf proposa de classer ces nouveaux agents, appelés « virus Coxsackie » en souvenir du lieu de leur découverte, en deux groupes A et B, suivant la distribution des lésions obtenues expérimentalement chez le souriceau nouveau-né :

— *les virus du groupe A* déterminent chez cet animal des lésions diffuses et exclusives des muscles striés.

— *les virus du groupe B* produisent une atteinte musculaire comparable, mais focale, ainsi que des lésions plus ou moins étendues d'autres tissus, en particulier du système nerveux et du tissu adipeux.

A l'intérieur de chaque groupe les souches sont réparties, d'après leurs caractères antigéniques, en différents types sérologiques à l'aide de réactions de neutralisation.

Depuis la découverte de ces virus, les recherches se sont multipliées.

Elles ont tout d'abord permis de préciser *leur pouvoir pathogène chez l'homme*. Découverts initialement chez des sujets normaux ou présentant des symptômes dont ils n'étaient pas manifestement la cause, les virus Coxsackie furent, à l'origine, des virus en « quête de maladies ». Leur responsabilité dans diverses affections humaines ne fut établie que progressivement.

L'apparition d'un tableau de pleurodynie chez des sujets contaminés accidentellement en manipulant des virus Coxsackie B amena Curnen, Shaw et Melnick (322) à établir, dès 1949, une relation entre ces agents et la maladie individualisée en 1932 par Ejnar Sylvest (510) sous le nom de « myosite aiguë épidémique » ou maladie de Bornholm. Une confirmation fut apportée non seulement par l'isolement répété de ces virus dans la gorge ou les selles des malades, mais surtout par leur présence au niveau des lésions musculaires (Lepine, Desse et Sautter, 159). Depuis, les virus Coxsackie B ont été associés à des syndromes cliniques variés, plus ou moins sévères : méningites aseptiques, paralysies transitoires, péricardites aiguës bénignes, orchites, affections du tractus respiratoire... Leur rôle dans l'étiologie de certaines myocardites et encéphalomyocardites aiguës, souvent mortelles, du nouveau-né, a été établi vers 1955 (Javett et coll., 398 - Montgomery et coll., 452).

Quant aux virus du groupe A, on leur attribue non seulement l'herpangine, syndrome clinique décrit dès 1920 par Zahorsky, mais aussi des méningites lymphocytaires bénignes, des paralysies, des affections fébriles non spécifiques...

De vastes enquêtes épidémiologiques, effectuées chez des malades ou chez des sujets sains, ont montré la large diffusion de ces virus dans le monde.

De nombreux travaux, favorisés par les progrès de la technique, ont permis de mieux connaître *leurs propriétés biologiques*.

Grâce à l'introduction, puis au perfectionnement des cultures in vitro, de nouvelles souches ont été isolées.

L'étude au microscope électronique, réalisée dès 1952 (Briefs, Breese et coll., 17), a donné des renseignements non seulement sur la taille, la

morphologie et la structure du virion, mais aussi sur son cycle de multiplication à l'intérieur des cellules parasitées.

Bien que ce soit chez le souriceau nouveau-né que les lésions soient les plus constantes et les plus caractéristiques, on a montré que certaines souches Coxsackie B pouvaient être pathogènes pour la souris adulte et pour d'autres animaux (Pappenheimer et coll., 200).

Du point de vue sérologique, les réactions de neutralisation ont permis de distinguer plusieurs types antigéniques. On connaît actuellement 23 sérotypes dans le groupe A (A_1 à A_{24} ; le type A_{23} a été identifié au virus $ECHO_9$) et 6 sérotypes dans le groupe B. La réaction de fixation du complément a été appliquée aux virus Coxsackie par Casals, Olitsky et Murphy (26), mais sa valeur reste limitée en raison de la fréquence des réponses hétérotypiques. Le pouvoir hémagglutinant de certaines souches a été démontré (Goldfield et coll., 92 - Rosen et Kern, 220). Enfin les tests de précipitation et d'immunofluorescence ont été utilisés récemment dans l'étude des virus Coxsackie.

La connaissance de plus en plus précise de ces virus a permis de les situer par rapport aux autres virus connus, dans différentes classifications que nous allons envisager.

CLASSIFICATION

L'étude biologique des virus Coxsackie a révélé leur étroite parenté avec les virus poliomyélitiques et E.C.H.O. En 1957, ces trois groupes de virus ont été réunis dans la même famille des Entérovirus (35). A cette occasion, le Comité des virus ECHO a pris le nom de Comité des Entérovirus.

Les principales propriétés des Entérovirus ont été définies en 1962 (36) :

« Les Entérovirus sont des hôtes transitoires du tractus digestif, mais ils peuvent se trouver également dans le naso-pharynx. Leurs types antigéniques sont multiples, mais tous répondent aux propriétés suivantes :

taille de 28 millimicrons de diamètre environ,

noyau constitué d'acide ribonucléique,

résistance à l'éther,

stabilisation cationique à l'inactivation thermique.

Certaines souches produisent des lésions nerveuses chez les primates

et les rongeurs, d'autres sont responsables de lésions musculaires, pancréatiques et du tissu graisseux chez le souriceau nouveau-né. Quelques-unes ne sont pathogènes pour aucun des animaux étudiés. L'hôte varie d'un type à l'autre et même pour les différentes souches d'un même type.

De nombreuses souches sont cytopathogènes pour les cellules de primates. Toutefois certaines n'ont pas pu, jusqu'ici, être cultivées en culture de tissus.

Plusieurs entérovirus possèdent des hémagglutinines spécifiques.

Un grand nombre d'entérovirus peuvent provoquer, chez l'homme, des maladies diverses qui ne sont pas spécifiques d'un type de virus : plusieurs types peuvent produire un même syndrome et chaque type peut être responsable, selon les cas, de syndromes variés. Mais l'infection reste le plus souvent latente, sans traduction clinique ».

Cependant des difficultés sont apparues rapidement lors de la classification de souches nouvellement isolées. Certaines, bien que correspondant antigéniquement à un sérotype connu, diffèrent de la souche prototype par diverses propriétés biologiques. De plus, de nouveaux types antigéniques sont découverts et se révèlent difficiles à classer parmi les trois groupes poliomyélitique, Coxsackie et E.C.H.O. Dans ces conditions, pour éviter toute confusion et faciliter la classification des nouvelles souches isolées, certains membres du Comité des Entérovirus ont proposé de supprimer la distinction en trois groupes différents, et de créer un système numérique simple sur la seule base des caractères sérologiques. Chaque sérotype serait désigné par un nombre et ainsi les virus Coxsackie B_1 à B_6 deviendraient les entérovirus 27 à 32 (184 - tableau I). Cette proposition n'a pas encore été adoptée.

Mais les Entérovirus font partie d'un cadre plus vaste. Dans les classifications récemment proposées, les virus sont groupés en fonction de leurs caractères morphologiques, structuraux et biologiques.

Dès 1961, Cooper (40) classe les virus d'après le type de leur acide nucléique, leur sensibilité ou leur résistance à l'éther, leur taille et leurs caractères immunologiques.

En 1962, Andrewes (2) répartit les virus des Vertébrés en 7 groupes : les poxvirus, les nitavirus, les adénovirus, les papovavirus, les myxovirus, les arbovirus et les nanivirus. Ces derniers qui correspondent à des virus de petite taille, résistants à l'éther et constitués d'acide ribonucléique.

Tableau I. — Liste des entéro-virus selon la nouvelle nomenclature proposée par le Comité des entérovirus

ENTÉRO-VIRUS n°	ANCIENNE DÉSIGNATION	NOM DE LA SOUCHE PROTOTYPE
1	Polio-virus type 1	Brunhild
2	Polio-virus type 2	Lansing
3	Polio-virus type 3	Leon
4	Coxsackie A 1	Tompkins
5	— A 2	Fleetwood
6	A 3	Olson
7	— A 4	High Point
8	— A 5	Swartz
9	— A 6	Gdula
10	— A 7	Parker
11	— A 8	Donovan
12	— A 9	Bozek
13	— A 10	Kowalik
14	— A 11	Belgique-1
15	— A 12	Texas-12
16	— A 13	Flores
17	— A 14	G-14
18	— A 15	G-9
19	— A 16	G-10
20	— A 17	G-12
21	— A 18	G-13
22	— A 19	NIH-8663
23	— A 20, 20 A, 20 B	IH-35
24	— A 21	Kuykendall (Cœ virus)
25	— A 22	Chulman
26	— A 24	Joseph
27	Coxsackie B 1	Connecticut-5
28	— B 2	Ohio-1
29	— B 3	Nancy
30	— B 4	J.V.B.
31	— B 5	Faulkner
32	Coxsackie B 6	Schmitt
33	ECHO 1,8	Farouk
34	— 2	Cornelis
35	— 3	Morrisey
36	— 4	Pesascek
37	— 5	Noyce
38	— 6, 6', 6"	D'Amori, Di Meo, Burgess
39	— 7	Wallace
40	— 9 (Cox A 23)	Hill
41	— 11	Gregory
42	— 12	Travis
43	— 13	Hamphill
44	— 14	Tow
45	— 15	CH-96-51
46	— 16	Harrington
47	— 17	CHHE-29
48	— 18	Metcalf
49	— 19	Burke
50	— 20	JV-1
51	— 21	Farina
52	— 22	Harris
53	— 23	Williamson
54	— 24	De Camp
55	— 25	JV-4
56	— 26	Coronel
57	— 27	Bacon
58	— 28	2060
59	— 29	JV-10
60	— 30	Bastianni
61	— 31	Caldwell
62	— 32	PR-10

comprennent les entérovirus humains et animaux, les rhinovirus et les virus des encéphalo-myocardites.

En accord avec le Sous-Comité International de Nomenclature des Virus réuni à Montréal en août 1962, ont été groupés sous le nom de « Picornavirus », des virus de petite taille (15 à 30 millimicrons de diamètre), résistants à l'éther et contenant un noyau d'acide ribonucléique. Ils comprennent :

— Les Picornavirus d'origine humaine

Entérovirus : a) poliovirus

b) virus Coxsackie A

c) virus Coxsackie B

d) virus E.C.H.O.

Rhinovirus

Virus non classés

— les Picornavirus des animaux inférieurs

ceci conformément aux décisions du Comité des Entérovirus de 1963 qui prit, à cette occasion, le nom de « Panel for Picornavirus » (37-185).

Pour classer les virus animaux, Hamparian, Hilleman et Ketler (109) utilisent comme critères le type d'acide nucléique, la sensibilité aux solvants organiques (éther - chloroforme), la labilité à l'acidité (pH 3), la taille et la sensibilité à la chaleur. Les entérovirus se distinguent des rhinovirus par leur différence de sensibilité à l'acidité et à la chaleur. Les entérovirus sont en effet résistants à un traitement à pH 3 pendant 30 mn, mais ils sont détruits par chauffage à 50°C pendant 30 mn. Les rhinovirus, par contre, sont inactivés à pH 3, mais certaines de leurs souches peuvent résister à 50°C pendant 30 mn.

Nous citerons également la classification plus générale de Lwoff, Horne et Tournier (169) qui groupent les virus animaux et végétaux d'après les caractéristiques moléculaires du virion (nature du matériel génétique, type de symétrie de la capside, présence ou absence d'enveloppe péricapsidale, nombre de capsomères pour les virus à symétrie cubique, diamètre de la capside pour les virus à symétrie hélicoïdale). Les virus poliomyélitiques sont classés parmi les virus à acide ribonucléique, à symétrie cubique et dépourvus d'enveloppe.

Un Comité International de Nomenclature des Virus doit être créé en 1966. Son but sera d'établir un nouveau système de classification des Virus, reposant sur les critères de Lwoff, Horne et Tournier. D'après les projets soumis par le comité provisoire réuni en 1965, le genre Coxsackievirus, de même que les genres Poliovirus et E.C.H.O.virus, appartiendrait à la sous-famille des Picornavirinae et à la famille des Napoviridae (32 capsomères).

Toutefois aucune classification, même la plus valable, ne peut être considérée comme définitive, en raison même des progrès incessants de la Virologie et de l'acquisition constante de nouvelles connaissances.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIOLOGIQUE DES VIRUS COXSACKIE B.

CHAPITRE I

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES ET PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

I. — Taille

II. — Morphologie et structure des particules virales au microscope électronique

III. — Cristallisation

IV. — Constitution chimique

V. — Action des agents physiques et chimiques.

CHAPITRE II

CARACTÈRES CULTURAUX DES VIRUS COXSACKIE B — RAPPORTS VIRUS - CELLULES HOTES

I. — Les cultures sensibles

A. — Les cultures primaires

B. — Les lignées cellulaires

C. — Les souches de cellules diploïdes

D. — Culture en œuf embryonné

II. — L'effet cytopathogène

1) Effet cytopathogène observé au microscope sans préparation

2) Effet cytopathogène après fixation et coloration par l'hématoxyline-éosine

3) La méthode des anticorps fluorescents

4) Aspect des lésions cellulaires au microscope électronique

Etude des plages.

III. — Cycle de multiplication des virus Coxsackie — Rapports virus - cellules hôtes

— cycle de multiplication

— rôle des récepteurs cellulaires spécifiques

— effets des facteurs environnants sur le cycle de multiplication des virus Coxsackie B.

IV. — Pouvoir hémagglutinant

CHAPITRE III

LE POUVOIR ANTIGÉNIQUE

I. — La structure antigénique des virus Coxsackie B

II. — Les relations antigéniques entre les différents sérotypes de virus Coxsackie B et les autres entérovirus.

CHAPITRE IV

LE POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL

I. — Pouvoir pathogène expérimental chez le souriceau nouveau-né

— La maladie animale

— Les lésions anatomo-pathologiques

II. — Pouvoir pathogène expérimental chez la souris adulte

A. — Pouvoir pathogène chez la souris adulte non traitée

— La maladie animale

— Les lésions anatomo-pathologiques

B. — Action de certains agents physiques et hormonaux. Influence de la gravidité sur la maladie expérimentale de la souris adulte

1) Facteurs physiques

2) Facteurs hormonaux

3) Effets de la gravidité

Explication de la sensibilité du souriceau nouveau-né.

III. — Pouvoir pathogène expérimental chez les autres animaux

CHAPITRE I

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES ET PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

I. — Taille

Comme tous les entérovirus, les virus Coxsackie sont des virus de petite taille.

Leurs dimensions ont été déterminées tout d'abord par des méthodes indirectes — filtration, ultrafiltration, centrifugation —, puis par l'observation directe au microscope électronique.

Filtration et Ultrafiltration :

Ces virus passent facilement en suspension à travers les filtres bactériens type Seitz E K ou les bougies.

L'ultrafiltration sur membranes gradocol graduées à pores mesurables donne, après application des facteurs de correction d'Elford, des chiffres variables selon les souches étudiées et selon les auteurs. Quigley (212) a ainsi trouvé pour les virus Coxsackie B_1 et B_2 un diamètre moyen de 10 à 15 millimicrons. Selon Melnick et coll. (189) les dimensions de ces deux virus seraient légèrement supérieures, de 15 à 23 millimicrons.

La détermination des constantes de sédimentation par *ultracentrifugation* aboutit à des chiffres légèrement plus élevés. Melnick et coll. (189), utilisant une centrifugeuse à rotor analytique, ont trouvé un diamètre de 25 à 30 millimicrons. En 1952, Breese et Briefs (16 - 17), étudiant deux souches de virus Coxsackie correspondant aux types antigéniques A_{10} et B_3, obtiennent des constantes de sédimentation se situant entre 150 et 175 uSv. correspondant approximativement à un diamètre de 37 millimicrons.

L'examen direct au *microscope électronique* de suspensions virales purifiées et concentrées a permis de confirmer les dimensions réduites

de ces virus. Le diamètre de chaque particule virale a été ainsi évalué à 37 millimicrons par Breese et Briefs (16) et à 30 millimicrons par Lepine et Delpy (58-156). En 1956, Mattern et Dubuy, après purification et cristallisation du virus Coxsackie A_{10}, ont montré que les cristaux résultaient de l'agglomération de particules sphériques de 28 millimicrons (180). Sur coupes de cellules infectées, les corpuscules viraux apparaissent généralement plus petits avec un diamètre approximatif de 24 à 25 millimicrons (79 - 193 - 195). La réduction de taille serait due aux différents traitements auxquels sont soumises les préparations cellulaires avant leur examen au microscope électronique.

II. — Morphologie et structure des particules virales au microscope électronique

Dès 1952, Briefs et Breese (16 - 17), examinant au microscope électronique des *suspensions purifiées* de virus Coxsackie, ont décrit des particules régulièrement sphériques, d'une uniformité remarquable, mesurant approximativement 37 millimicrons de diamètre. Cet aspect a été retrouvé par Lepine (156) sur des suspensions virales purifiées suivant la méthode protamine-éther mise au point par Delpy.

Des particules identiques, mais de taille légèrement inférieure, ont également été observées en *culture de tissus*. Fogh et Stuart (79), Morgan, Howe et Rose (193), Nunez Monteil et coll. (195) ont décrit sur des préparations cellulaires infectées avec un virus Coxsackie B_5 des particules intracytoplasmiques, isolées ou groupées en amas cristallins et non cristallins. Ces particules, de forme sphérique, apparaissent constituées d'un nucléoïde central dense, dont la taille a été estimée approximativement à 15 millimicrons, entouré d'une zone périphérique plus claire. Le diamètre des particules complètes atteindrait 25 à 28 millimicrons. Présentes uniquement dans les cellules infectées et non dans les cellules normales témoins, elles semblent bien correspondre au virus.

Nous ne possédons pas actuellement de données précises concernant la structure des virus Coxsackie, mais elle est probablement très proche de celle des virus poliomyélitiques, qui ont été étudiés à plus fort grossissement :

La figure morphologique de ces virus dits « sphériques » serait en réalité un icosaèdre. Ce sont des virus à symétrie cubique. Leur étude par la diffraction aux rayons X a permis de reconnaître une ordonnance spatiale régulière avec des axes de symétrie de type 5 : 3 : 2 (Finch et Klug, 78).

Ils sont constitués de deux parties :

— *un nucléoïde central*, dense, dont le diamètre varie de 15 à 18 millimicrons,

— *entouré d'une capside*, icosaèdrique, de 27 millimicrons, constituée d'éléments juxtaposés, les capsomères, résultant eux-mêmes de l'assemblage de plusieurs unités de structure. Comme tous les membres de la famille des Napoviridae, ils seraient constitués de 32 capsomères.

Ils ne possèdent pas d'enveloppe.

III. — Cristallisation

Le virus Coxsackie A_{10} (souche Huebner) a été obtenu à l'état cristallisé par MATTERN et DUBUY en 1956 (180). Par homogénéisation, précipitation, dialyse et ultracentrifugation de carcasses de souriceaux infectés, les auteurs ont réussi à obtenir, après conservation à 4°C pendant 1 à 2 semaines, des petits cristaux dodécaèdriques à 4 faces hexagonales, dont les dimensions maxima peuvent atteindre 100 microns. La recristallisation donne des cristaux plats, carrés ou rectangulaires. L'examen au microscope électronique montre qu'ils sont constitués de particules sphériques de 28 millimicrons de diamètre en alignement ordonné. Le titre infectieux de ces cristaux pour le souriceau serait de 10^{13} DL 50 (dose léthale 50) par ml.

IV. — Constitution chimique

Elle a fait l'objet de peu d'études précises.

Le noyau central est constitué d'acide ribonucléique (ARN). Il est détruit par la ribonucléase, mais il résiste à l'action de la désoxyribonucléase (235). Il résiste également aux substances inhibant habituellement le métabolisme de l'acide désoxyribonucléique, telles que le 5 fluoro-uracil et les dérivés halogénés de la désoxyuridine. De type monocaténaire, il prend avec l'acridine orange une coloration rouge, mise en évidence par microscopie en fluorescence.

Cet acide ribonucléique représente l'élément génétique, support des caractères héréditaires. Il semble également être l'élément inducteur de la synthèse virale à l'intérieur des cellules dont il oriente le métabolisme de façon à leur faire reproduire non seulement l'acide nucléique spécifique, mais également les protéines hautement spécifiques nécessaires à la synthèse du virus originel complet. Ceci a été démontré notamment par

les travaux de Sprunt et coll. (235). Ceux-ci, utilisant la technique d'extraction par le phénol de Gierer et Schramm, ont pu obtenir l'acide ribonucléique isolé provenant de différents entérovirus dont trois virus Coxsackie, A_7, B_4 et B_5. Ils ont montré que cet acide ribonucléique, déposé au contact de cellules humaines sensibles (cellules amniotiques et Hela), manifestait un pouvoir infectieux indéniable avec multiplication virale et production d'un effet cytopathique caractéristique. Ce pouvoir infectieux est inhibé par la ribonucléase, mais non par la désoxyribonucléase, ni par l'immunsérum spécifique. Il est plus faible que celui de la particule virale intacte. A partir des plages formées, il est possible de récupérer le virus complet qui est neutralisé par l'antisérum spécifique. L'acide nucléique isolé est également capable d'infecter des cellules non sensibles, mais il ne se produit alors qu'un seul cycle de multiplication (253).

La capside, constituée de protéines spécifiques, est le support des caractères antigéniques.

Comme tous les entérovirus, les virus Coxsackie sont dépourvus de lipides libres, ce qui explique leur résistance à l'éther et aux solvants des graisses.

Ils ne possèdent pas d'enzymes.

V. — Action des agents physiques et chimiques

Les virus Coxsackie sont relativement stables et résistants.

ACTION DES AGENTS PHYSIQUES

1) *La température*

— *La chaleur :*

Robinson (219) a étudié l'action de la chaleur sur plusieurs souches de virus Coxsackie (A_1, A_2, A_3, B_1 et B_2). En suspension saline, toutes ces souches sont détruites par chauffage à 55°C pendant 30 minutes, mais toutes, excepté la souche A_2, résistent à 49°C avec conservation de leur pouvoir infectieux.

Récemment on a démontré que la thermorésistance pouvait dépendre de la présence de certains cations dans le milieu (184 - 265). Cette *stabilisation cationique à l'inactivation thermique* est une propriété caractéristique des entérovirus qui figure dans la définition donnée par le

Comité des entérovirus en 1962 (36). A la suite d'une étude portant sur 35 membres de cette famille dont les six types antigéniques du groupe B, on a pu observer que la présence dans le milieu de certains cations bivalents Ca++ et Mg++, ou monovalent, Na+, les protégeait contre l'inactivation thermique. Cependant si les cations bivalents stabilisent les entérovirus à toutes les températures comprises entre 4°C et 50°C, les cations monovalents n'agissent qu'à certaines températures sélectives. Ainsi à 50°C, les ions Mg++ ou Ca++ à concentration M stabilisent les virus pendant une à trois heures. Par contre la stabilité conférée par l'ion Na+ à concentration 2 M disparaît rapidement après une heure. A 37°C les ions Mg++ ou Ca++ à concentration M protègent les entérovirus pendant au moins 3 jours, alors que l'ion Na+ à concentration 2 M augmente leur inactivation. Seuls les virus possédant une symétrie cubique, un noyau d'acide ribonucléique et dépourvus de lipides essentiels seraient stabilisés par les ions Mg++.

Pohjanpelto (208) a montré que certains virus Coxsackie et E.C.H.O. pouvaient être stabilisés contre l'inactivation thermique par l'action in vitro de la l-*cystine*. Les virus Coxsackie A_9 et B_3 sont stabilisés à 50°C pour des concentrations de l-cystine comprises entre 500 et 2.500 microgrammes/ml, mais non à la concentration de 100 microgrammes/ml. Selon l'auteur, cette stabilisation serait due à la combinaison de la cystine avec les groupements-SH des protéines virales avec formation de liaisons S-S, empêchant toute oxydation lors du chauffage. Cependant pour Wallis et Melnick (265) ces résultats, non retrouvés à 36°5 C, ne devraient pas être attribués à l'action du composé, mais plutôt à la concentration en ClNa du milieu, résultant de l'utilisation d'HCl et de NaOH pour dissoudre et neutraliser la cystine.

Les produits laitiers, lait, crème, beurre, confèrent aux virus une certaine protection. Leur inactivation thermique nécessite alors des températures plus élevées (60°C à 70°C). Certaines souches de titre infectieux élevé, en suspension dans la crème de lait, ont été incomplètement inactivées par une pasteurisation de 30 minutes à 61°7 C ou de 15 secondes à 71°1 C (137).

— *Le froid :*

Les virus Coxsackie résistent à de basses températures. Seul le froid permet une bonne conservation de ces virus. Congelés à — 20° ou mieux à — 70°, ils peuvent survivre plusieurs années, même dans des échantillons divers (tissus - matières fécales - lavages de gorge) sans baisse importante du titre infectieux.

On peut également les conserver dans une solution de glycérine à 50 % pendant 70 jours à la température du laboratoire et au moins un an à 4°C.

2) *La dessication*

Les virus Coxsackie, de même que les virus poliomyélitiques, ne supportent pas la conservation par dessication simple ou par lyophilisation. Ils peuvent cependant survivre quelques jours à 4°C comme à 22°C dans des selles traitées par dessication (232).

3) *Le pH*

Les virus Coxsackie sont capables de résister à une large échelle de pH. A la température du laboratoire toutes les souches étudiées par Robinson (219) ont résisté :

— 1 jour à des pH variant de 2,3 à 9,4

— 7 jours à des pH variant de 4 à 8.

Les deux souches B_1 et B_2 ont même supporté des pH de 2,3 à 9 pendant 7 jours. La résistance à l'acidité, commune à tous les entérovirus, permet de les différencier des rhinovirus (109). Ces derniers sont en effet inactivés à pH 3. Sur cultures primaires de rein de singe et de rein embryonnaire humain, à 37°C et à pH 6, les entérovirus se développent bien alors que les rhinovirus se multiplient difficilement (232).

4) *Les radiations*

Les virus Coxsackie sont inactivés par exposition aux rayons *ultra-violets*. Des solutions de virus Coxsackie A_{10} dont les titres initiaux étaient de 4 à 4,5 log 10 ne présentent plus, après exposition de 210 secondes aux rayons ultra-violets, que des titres résiduels de 1,2 à 1,8 log 10 (237).

5) *Les ultra-sons*

L'activité cytopathique du virus Coxsackie B_4 pour les cellules rénales de singe est nettement diminuée après exposition de 15 à 120 secondes aux ultra-sons (15).

ACTION DES AGENTS CHIMIQUES

La résistance des virus Coxsackie à certains agents chimiques est bien connue.

Tous les entérovirus résistent à une solution d'*éther* à 20 % pendant

18 heures à 4°C. Cette propriété fondamentale est citée dans leur définition. Elle traduit l'absence de lipides libres. SULKIN et WALLIS (244) ont étudié l'action de l'éther sur plusieurs virus du groupe A et du groupe B (B_1, B_2, B_3). Tous se sont montrés résistants à des concentrations d'éther de 10 à 50 % pendant 2 heures, à 4°C comme à 37°C, avec une exception toutefois pour la souche Ohio appartenant au type B_2. L'activité virulicide de l'éther à l'égard de ce virus est proportionnelle à la concentration du produit utilisé. Elle est plus marquée à 37°C qu'à 4°C.

De même, les virus Coxsackie ne sont pas inactivés par le *désoxycholate de soude* (246). Ils résistent aux autres solvants organiques tels que *l'alcool éthylique* à 70 %, *le lysol* à 5 %, *le phénol* et *le chloroforme* (76). Ils sont rapidement inactivés par *l'iode*, *l'acide chlorhydrique N/10*, *le formol* à 0,3 %.

Nous n'avons pas eu connaissance de publications concernant l'action des *oxydants* sur les virus Coxsackie. Par contre le pouvoir virulicide de l'ozone, du permanganate de potassium à 2 % et de l'eau oxygénée à 1 % sur les virus poliomyélitiques est bien connu (202).

Les entérovirus sont également sensibles au *chlore* et à ses dérivés. La quantité de chlore nécessaire pour leur inactivation dans les eaux dépend non seulement de la température, du pH et de la teneur en matières organiques, mais aussi de la souche de virus. KELLY et SANDERSON (138) ont étudié l'action du chlore sur les virus poliomyélitiques et sur 2 souches de virus Coxsackie B (B_1 et B_5). Dans les mêmes conditions d'expérience, ils ont pu observer de grandes différences dans la vitesse d'inactivation d'une souche à l'autre, avec par ordre de sensibilité décroissante au chlore, les souches Coxsackie B_2, Mahoney, MEF-I, Coxsackie B_1, Saukett. De plus, le froid ou l'élévation du pH retarde l'inactivation. Selon ces auteurs, il faut au moins, à pH 7 et à 25°C, une concentration de chlore libre résiduel de 0,3 p.p.m pour obtenir une inactivation complète des entérovirus après 30 mn de contact.

Le virus Coxsackie B_3 chauffé à 37°C pendant 30 minutes en présence de *trypsine* reste stable (178).

Le 2 — (α hydroxybenzyl) benzimidazole (H.B.B.) et la *Guanidine* sont des inhibiteurs sélectifs de la multiplication des entérovirus (70 à 73 - 256). Nous étudierons ultérieurement leur mécanisme d'action.

Sur la base de la sensibilité à ces deux composés, les nanivirus ont pu être répartis en 3 groupes (256) :

1) Les virus sensibles à l'H.B.B. et à la Guanidine, c'est-à-dire les

poliovirus, les virus Coxsackie B, le virus Coxsackie A_9 et la plupart des virus E.C.H.O.

2) Les virus sensibles à la Guanidine, mais non à l'H.B.B. comprenant les autres virus Coxsackie A et la souche H.G.P. du virus du rhume.

3) Les virus insensibles à l'H.B.B. et à la Guanidine correspondant aux virus E.C.H.O.$_{22, 23}$ et $_{28}$, et à la souche B_{632} du virus du rhume.

Ainsi ces deux produits chimiques peuvent-ils être utilisés dans le diagnostic différentiel entre les différents entérovirus.

Le pouvoir infectant de ces agents est également inactivé par certains *réactifs sulfhydriles* et *polysulfides* (le p — chloromercuribenzoate ou P.C.M.B. : le 2,3 dimercaptopropanol ou B.A.L. ; la cystine). Nous les envisagerons lors de l'étude du cycle de multiplication des virus Coxsackie B (204 - 205 - 208).

Tous *les antibiotiques* actuellement connus sont sans action sur les virus Coxsackie, aussi bien in vitro qu'in vivo.

Les nouveaux *produits antiviraux* n'ont pas été utilisés, à notre connaissance, contre les virus Coxsackie.

En résumé, les virus Coxsackie sont de petits virus (28 millimicrons), de forme sphérique. Ils sont constitués d'un noyau d'A.R.N. entouré d'une capside protéinique. Ils ne possèdent pas d'enveloppe et sont dépourvus de lipides essentiels. Ils résistent à l'éther ainsi qu'à divers agents physiques et chimiques. Dénaturés par la lyophilisation, ils se conservent dans la glycérine à 50 % et congelés.

CHAPITRE II

CARACTÈRES CULTURAUX DES VIRUS COXSACKIE B

Rapports virus - cellules hôtes

L'introduction des cultures in vitro et leur perfectionnement a permis non seulement l'isolement de nouveaux virus, mais également d'accroître nos connaissances de façon spectaculaire tant en ce qui concerne l'étiologie et l'épidémiologie des affections virales qu'en ce qui touche certains processus plus intimes concernant la multiplication virale et les rapports virus-cellules hôtes.

Depuis la découverte d'Enders, Weller et Robbins (76) en 1949, la recherche de l'effet cytopathogène en cultures de tissus est devenue une méthode générale pour isoler et étudier la plupart des virus humains. Différentes cellules d'origine animale ou humaine peuvent, après dispersion par la trypsine et mises en suspension dans un milieu approprié, se fixer sur les surfaces de verre et s'y multiplier en formant en quelques jours une couche monocellulaire continue. Toute altération morphologique de ces cellules, à la suite de leur infection par un virus, peut alors être facilement appréciée au microscope ordinaire directement à travers la paroi de verre du tube de culture. Cette technique, remarquable par sa simplicité, a été appliquée avec succès aux virus Coxsackie B. En effet, si parmi les virus du groupe A, seules certaines souches appartenant en particulier au type antigénique A_9 ont pu être cultivées jusqu'ici in vitro, tous les virus du groupe B sont capables de se multiplier en cultures de tissus.

Après avoir passé en revue les différents types de cellules sensibles aux virus Coxsackie B, nous décrirons l'effet cytopathogène, puis le cycle de multiplication et les rapports virus-cellules hôtes.

I. — Les cultures sensibles

Les systèmes cellulaires sensibles aux virus Coxsackie B sont nombreux.

Nous envisagerons successivement les trois grands groupes de cultures actuellement utilisées en Virologie :

— *Les cultures primaires* qui proviennent directement du tissu originel et sont cultivées pour la première fois. D'origine animale ou humaine, diploïdes ou hétéroploïdes, elles ont l'inconvénient de ne se maintenir en survie que pendant un temps limité et de nécessiter l'apport régulier d'organes frais.

— *Les lignées cellulaires*, à caryotype hétéroploïde. Elles peuvent être conservées indéfiniment par des repiquages successifs dans des milieux nutritifs appropriés.

— *Les souches cellulaires diploïdes.* Elles sont capables de proliférer activement pendant plusieurs générations dans un milieu convenable, puis elles meurent ou acquièrent des caractères d'hétéroploïdie et deviennent alors des lignées cellulaires.

Les caractéristiques différentielles qui permettent de distinguer les souches de cellules diploïdes des lignées cellulaires continues ont été précisées par Hayflick et Moorhead (111).

A. — LES CULTURES PRIMAIRES

Elles ont été les premières utilisées et peuvent être d'origine animale ou humaine.

1) *Parmi celles d'origine animale*, nous citerons :

— *Les cultures primaires d'origine simienne :* les cellules trypsinisées de *rein de singe* rhésus sont couramment utilisées et représentent le système de choix pour la culture et l'isolement de tous les entérovirus.

Sickles, Feorino et Plager (230) ont cultivé sur ce système cellulaire, avec apparition d'un effet cytopathogène caractéristique, 24 souches de virus Coxsackie, préalablement isolées sur souriceau et appartenant aux types B_1 à B_5. Ils ont réussi en outre à isoler sur ce même système, directement à partir de selles humaines, 21 souches du même groupe.

Hsiung et Melnick (126) ont testé la sensibilité des cultures de tissu rénal provenant de 13 espèces de singes différents, d'origine africaine

(Erythrocebus Patas - Cercopithecus aethiops sabaeus et tantalus...) ou asiatique (Macacus cynomolgus). Toutes ces cultures se sont montrées favorables à la multiplication des virus Coxsackie B et d'une sensibilité égale à celle des cellules rénales de singe rhésus. Par contre les cellules du singe africain E. Patas sont deux fois plus sensibles aux virus poliomyélitiques que celles de rhésus. Elles sont d'une sensibilité égale pour les virus E.C.H.O. types 7, 8 et 12, mais les virus E.C.H.O. 1, 3, 4, 6, 9 et 14, ainsi que le virus Coxsackie A_9 n'y produisent pas de plages de nécrose. En revanche, les cellules d'autres singes africains, c. aethiops sabaeus et tantalus, permettent la multiplication de tous les entérovirus et sont particulièrement favorables aux virus E.C.H.O.

Les cellules rénales de plusieurs espèces de babouins (P. papio, cynocephalus, doguera et M. leucophaeus) ont également été étudiées. Elles sont aussi sensibles que les cellules de rhésus pour les virus poliomyélitiques et Coxsackie B (126). Par contre, les virus Coxsackie A_9 et E.C.H.O. 1 ne sont pas cytopathogènes sur cellules de babouin cynocéphale, tandis que les cellules de babouin drill (M. leucophaeus) sont hautement sensibles à tous les virus E.C.H.O.

Ces données ont été ultérieurement confirmées par KALTER et coll. (135). Selon ces auteurs, les cellules de babouins présentent l'avantage sur les cellules de rhésus d'être moins fréquemment infectées par des virus latents, tels que le virus SV_{40}, et lorsque celui-ci est présent, il y détermine un effet cytopathique caractéristique qui permet de le déceler rapidement.

Toutes nos souches de virus Coxsackie B, types B^1 à B^5, ont été isolées facilement sur cellules rénales de babouin cynocéphale, avec apparition d'un effet cytopathogène caractéristique en 2 à 3 jours.

Les différences de sensibilité des cellules rénales de certaines espèces de singes à l'égard des différents entérovirus semblent constantes et pourraient selon HSIUNG et MELNICK jouer dans le diagnostic des virus entériques humains le même rôle que l'usage des milieux différentiels dans l'étude des entérobactéries.

Récemment des cellules de *cœur de singe* ont été utilisées par TYNDALL et LUDWIG (260) pour la culture du virus Coxsackie B_3. La l-cystine serait indispensable non seulement pour la multiplication du virus, mais aussi pour le maintien en survie des cellules.

Les virus Coxsackie B sont également cytopathogènes pour les *cellules testiculaires* de singe rhésus (BURNSTEIN et coll., 19).

— *Les cultures primaires d'origine murine*, dont l'utilisation paraissait

s'imposer étant donné le pouvoir pathogène marqué des virus Coxsackie B pour les souriceaux et hamsters nouveau-nés in vivo. Mais les tentatives effectuées par différents auteurs se sont révélées parcellaires et inconstantes :

Sur culture d'embryon de souris, Weller et coll. (266) réussirent à cultiver un virus Coxsackie B_1, mais sans effet cytopathogène visible.

Sur cultures de tissus de souriceau nouveau-né : Stulberg et coll. (240-241) obtinrent la multiplication de la souche Conn-5 (type B_1) sur cultures de muscles striés et de tissu adipeux et sur les fibroblastes qui en dérivent, cette multiplication s'accompagnant d'une dégénérescence des cellules infectées.

Les cellules trypsinisées de *rein de souris* sont détruites par les virus Coxsackie B, alors qu'elles sont insensibles aux virus poliomyélitiques et à l'E.C.H.O.$_9$ (Orfila, 196).

Les cellules trypsinisées de *rein de hamster* ont été surtout étudiées par Barron et Karzon (4). Elles se sont révélées favorables à la multiplication de tous les virus Coxsackie B étudiés (B_1 à B_5) avec des titres infectieux sensiblement égaux à ceux obtenus sur rein de singe, mais ce système cellulaire ne semble pas aussi efficace que les cellules rénales de singe pour l'isolement des virus à partir des prélèvements cliniques.

— *Parmi les autres cellules animales*, plus rarement utilisées, nous citerons :

Les cellules trypsinisées de *rein de chat*, sur lesquelles les virus Coxsackie B_1 à B_5 produisent un effet cytopathogène, mais sans multiplication apparente (Crandell, 42).

Les cultures tissulaires de *rein de porc* (104 - Beytout cité par Lepine. 157). Sensibles à tous les virus Coxsackie B (B_1 à B_6), mais non sensibles aux virus E.C.H.O., elles pourraient être utilisées pour le diagnostic différentiel entre ces deux groupes de virus. Les titres infectieux sont les mêmes que ceux obtenus sur rein de singe, de l'ordre de 10^7 D.I.C.T. 50 (dose infectieuse sur culture de tissu). Ce système cellulaire convient très bien à l'isolement des virus Coxsackie B à partir des selles humaines, mais non à l'isolement des virus poliomyélitiques (Guerin, 104).

Selon Lenahan et Wenner (152) les virus Coxsackie B_3, B_4 et B_5 sont cytopathogènes non seulement pour *les cellules rénales de porc, de souris* et *de hamster*, mais aussi pour *les cellules rénales d'agneau*. Les types B_3 et B_5 lysent également *les cellules rénales de veau* et le virus Cox-

sackie B_4 détruit *les cellules rénales de jeune chat*. Par contre, aucun des virus étudiés ne manifeste d'action cytopathique pour les cellules rénales de chien ou de lapin.

2) *Parmi les cultures primaires d'origine humaine* utilisées dans l'étude des virus Coxsackie B, nous mentionnerons :

Les cultures de tissus embryonnaires humains. Un virus Coxsackie B, isolé d'un cas de pleurodynie, a pu être cultivé par WELLER et coll. (268) sur tissu de cerveau embryonnaire, mais sans aucune manifestation cytopathique. Ce même virus ne s'est pas multiplié sur tissus sous-cutané et musculaire, contrairement aux virus poliomyélitiques.

LYCKE et coll. (172) ont obtenu, sur culture de rein embryonnaire, la multiplication d'un virus Coxsackie B_3, accompagnée d'altérations morphologiques des cellules épithéliales.

Mais les tissus matures restent les plus utilisés.

— *Les cellules rénales humaines* sont sensibles aux virus Coxsackie B (122 - 268). HSIUNG (122), étudiant le comportement de différents virus Coxsackie B sur cultures cellulaires de reins humains provenant d'individus de tous âges, a observé une différence de sensibilité entre les cellules de sujets adultes et les cellules d'enfants. Ces dernières sont plus sensibles. Elles présentent des lésions plus intenses, d'apparition plus rapide, et conviennent mieux à l'isolement de ces virus. Les titres infectieux sont supérieurs à ceux obtenus sur reins d'adultes. Cette différence de sensibilité a été retrouvée avec les virus E.C.H.O., mais non avec les virus poliomyélitiques. HSIUNG émet l'hypothèse d'une immunité cellulaire des tissus adultes.

— La sensibilité des *cellules amniotiques humaines* aux virus Coxsackie B a été étudiée par de nombreux auteurs (10 - 68 - 255).

TAKEMOTO et LERNER (255) ont obtenu des résultats très variables selon les souches. Ainsi, si les types B_1, B_3 et B_5 déterminèrent des lésions cellulaires caractéristiques et constantes, aucune des quatre souches B_4 testées, ne manifesta d'action cytopathique et seulement une sur les quatre souches B_2 utilisées se multiplia.

Ces résultats irréguliers ont été confirmés ultérieurement par DUNCAN et BELL (68). Ceux-ci ont obtenu un effet cytopathogène avec les Coxsackie B_1, B_3, B_5 et B_6, mais non avec les types B_2 et B_4. En étudiant comparativement la sensibilité des cultures amniotiques humaines et des cultures de rein de singe, DUNCAN et BELL ont démontré que les titres obtenus avec les virus B_1 et B_6 étaient plus élevés sur rein de

singe, et avec le Coxsackie B_3, plus élevés sur amnios humain. Pour le type B_5, les titres étaient très voisins sur les deux systèmes cellulaires.

Les cellules amniotiques semblent moins bien convenir que les cellules de rein de singe pour l'isolement des virus Coxsackie B à partir des selles.

— *Les cellules utérines humaines :* Des lésions cellulaires peu accentuées et inconstantes ont été obtenues avec les types B_1, B_3, B_5, mais non avec les types B_2 et B_4 (192 - 230).

— *Les cellules thyroïdiennes humaines :* Selon DUNCAN (67), ces cellules seraient aussi sensibles que les cellules rénales de singe pour la détection des entérovirus, excepté pour les virus Coxsackie du groupe B.

Pour isoler nos virus Coxsackie B à partir des produits pathologiques, nous avons inoculé simultanément trois systèmes cellulaires différents : cellules de rein de singe (Cynocephalus babuin), cellules K B et cellules thyroïdiennes humaines. Ces dernières ont donné des résultats irréguliers avec les types B_4 et B_5 : certaines souches ont manifesté un effet cytopathique dès le premier passage ; d'autres souches isolées sur cellules rénales de singe et sur cellules K B ne purent l'être sur ce système, mais repiquées ultérieurement sur cellules thyroïdiennes, elles se multiplièrent facilement. Il en fut de même pour une souche B_2. Par contre, les deux souches B_3 étudiées furent isolées facilement sur ces cellules, mais en produisant un effet cytopathogène tardif, apparaissant vers le 11e jour.

— *Les cellules chorioniques humaines :* LERNER et coll. (160) ont décrit la sensibilité des cellules épithéliales et des fibroblastes du chorion humain aux virus Coxsackie B. Les titres obtenus, comparables à ceux observés sur cellules HeLa, sont légèrement inférieurs à ceux obtenus sur cultures de rein de singe.

— *Des cellules cérébrales et intestinales* ont été utilisées par WELLER et coll. (267 - 268) pour la culture d'une souche Coxsackie B.

— Enfin, nous citerons les travaux de SACERDOTE DE LUSTIG et coll. (222), qui ont obtenu la multiplication d'un virus Coxsackie B_4 sur des cultures de *fibroblastes et de cellules adipeuses provenant de lipomes humains.* L'effet cytopathogène, caractérisé surtout par des lésions nucléaires, s'est traduit par une dégénérescence des cultures, particulièrement marquée au niveau des cellules adipeuses. Une action cytopathique comparable a été obtenue in vivo : le même virus provoque la régression de lipomes humains, cette action étant neutralisée par l'antisérum spécifique.

B. — LES LIGNÉES CELLULAIRES

Elles ont été utilisées avec succès pour l'isolement et la culture des virus Coxsackie B. Nous citerons :

— *Les cellules HeLa*, isolées en 1950 d'un néoplasme du col utérin.

Dès 1954, Stulberg et coll. (241) et Crowell et coll. (44) décrivent l'action cytopathogène de la souche Conn-5 (type B_1) sur cellules HeLa.

L'année suivante, Crowell et Syverton (45) observent des lésions cellulaires avec plusieurs souches appartenant aux types B_1, B_3 et B_4 et Monaci et coll. (192) avec les types B_1, B_3 et B_5.

Selon Dalldorf (55), les virus Coxsackie B_2 et B_4 donneraient sur ce système cellulaire des résultats plus irréguliers et moins marqués que les types B_1, B_3 et B_5.

— *La souche K B de Eagle*, provenant d'un carcinome du plancher de la bouche, a été mise en culture en 1954.

Des virus Coxsackie de types B_1, B_3 et B_5 ont pu y être cultivés par Gioannini et Camarri (87).

D'après nos résultats personnels, cette lignée semble convenir aussi bien que les cellules rénales de singe pour l'isolement des virus Coxsackie B. Toutes nos souches (types B_1 à B_5) ont pu être isolées dès le premier passage sur ce système cellulaire. L'effet cytopathogène est habituellement précoce et apparaît vers la 24e ou 48e heure.

— *Les cellules F L*, d'origine amniotique, ont été utilisées en particulier par Fogh et Stuart (79 - 80) pour étudier l'effet cytopathogène du virus Coxsackie B_5.

— *Les cellules GEY*, cellules épithéliales néoplasiques humaines, ont donné des résultats comparables aux cellules Hela (Crowell, 45).

— *Les cellules Hep*$_2$, de nature épithéliale, sont sensibles aux 3 types de virus poliomyélitiques et à tous les virus Coxsackie B (B_1 à B_6), mais ne permettent pas la multiplication des virus Coxsackie A_9 et A_{16} et de certains virus ECHO (Marchetti, 176).

Si ces lignées cellulaires continues sont d'entretien facile et permettent une production importante de nombreux virus, elles présentent cependant l'inconvénient majeur de ne pouvoir être utilisées dans la préparation de produits destinés à être inoculés à l'homme, tels que les vaccins. En effet, si l'hétéroploïdie ne correspond pas obligatoirement à un caractère de malignité, plusieurs expériences de transplantations homologues chez

l'homme (234) et hétérologues chez l'animal irradié ou traité par la cortisone (110 - 168 - 252 - 257) ont démontré que ces lignées, qu'elles soient d'origine cancéreuse ou non, étaient capables de produire des tumeurs. Par contre le caractère diploïde ne s'accompagnerait jamais de propriétés tumorales. C'est pourquoi on a cherché à obtenir des souches de cellules diploïdes capables de conserver un caryotype stable au cours des passages successifs.

C. — LES SOUCHES DE CELLULES DIPLOIDES

A survie limitée, elles présentent l'avantage sur les lignées cellulaires continues de posséder un génome stable et de pouvoir être utilisées pour la fabrication des vaccins.

Il s'est avéré difficile d'obtenir de telles souches génétiquement stables. Dans le domaine des cellules humaines, Gey et Bang (83) dès 1939 ont réussi à entretenir sur tubes roulants pendant plusieurs mois une souche de fibroblastes humains. En 1954, Chang (28) a décrit la culture continue de cellules humaines normales de type épithélial (conjonctive, foie, rein). Ces souches cellulaires, dont plusieurs ont été commercialisées, ne présentaient aucune modification morphologique au bout de deux ans (174). Jordan (134), en 1956, a isolé à partir de muqueuses nasales normales deux souches de cellules épithéliales (D.M.B. et D.H.O.V.) qui ont donné pour les virus Coxsackie B des résultats comparables à ceux obtenus sur cellules Hela. Mais après quelques semaines de culture continue, certaines de ces cellules devaient présenter des altérations nucléaires leur donnant un aspect néoplasique. Cependant leur transformation cancéreuse in vitro n'a jamais pu être affirmée.

De meilleurs résultats furent obtenus par Puck et coll. (211) en 1958. Employant du sérum de veau fœtal et appliquant des conditions rigoureuses de température et de pH, ils ont pu cultiver in vitro pendant plusieurs mois des cellules diploïdes provenant de tissus normaux humains et animaux, sans modification de leur caryotype au cours des passages.

Plus récemment Hayflick et Moorhead (111) ont isolé plusieurs souches de cellules fibroblastiques à partir de tissus normaux d'embryons humains. Ces cellules, placées dans un milieu favorable (milieu de Eagle additionné de 10 % de sérum de veau) sont capables de proliférer activement pendant plusieurs dizaines de générations, tout en conservant le caractère euploïde, la morphologie cellulaire et le spectre de sensibilité

virale du tissu originel. Cependant, habituellement, vers le 40e passage, ces cellules présentent certaines modifications morphologiques :

— soit qu'elles subissent une dédifférenciation tout en conservant un caryotype normal et cessent de proliférer vers le 50e passage,

— soit qu'elles se transforment en éléments atypiques, prenant un aspect de type néoplasique. Ces transformations s'accompagnent d'une altération du caryotype avec apparition d'une aneuploïdie et d'une modification de la sensibilité à l'égard des différents virus. La multiplication de ces cellules atypiques est habituellement intense et persiste au-delà du 50e passage.

Trois souches, isolées de poumon embryonnaire humain, ont été utilisées à notre connaissance, dans l'étude des virus Coxsackie B (38) :

— la souche WI-26 a permis la culture des virus Coxsackie B_1 à B_5 avec production de lésions cellulaires caractéristiques. Par contre, le type B_6 n'a pas manifesté d'activité cytopathique.

— la souche WI-38 sur laquelle les virus Coxsackie B ne produisent habituellement pas d'effet cytopathogène ou seulement des modifications très minimes.

— la souche LT-16, non sensible aux virus Coxsackie B_1 à B_5, mais sensible aux virus poliomyélitiques, avec obtention de titres comparables à ceux obtenus sur cultures cellulaires de rein de singe.

D. — CULTURE EN ŒUF EMBRYONNÉ

Les premiers essais pour cultiver in ovo des virus Coxsackie échouèrent (Dalldorf, 56).

En 1950, Huebner et coll. (129), après des passages alternés de souris à œufs, réussirent quelques passages en série, en sac vitellin avec une souche de type A_2.

Deux ans plus tard, Shaw (228) vint confirmer la difficulté d'adapter les virus Coxsackie à l'œuf embryonné. Sur 29 souches étudiées, une seule, appartenant également au type A_2 s'est révélée hautement pathogène pour l'embryon de poulet, causant sa mort. Aucun résultat positif ne fut obtenu avec les virus Coxsackie B testés.

Godenne et Curnen (90) réussirent le passage en série sur membrane chorio-allantoïdienne d'une souche Coxsackie A_8 (Easton 10) et de plusieurs souches A_2.

A notre connaissance, aucun virus Coxsackie du groupe B n'a pu être cultivé jusqu'ici sur œuf de poule embryonné.

Ainsi la gamme des divers systèmes cellulaires qui ont été utilisés dans l'étude des virus Coxsackie B s'avère très étendue. Toutefois la sensibilité des différents tissus à l'égard de ces virus varie considérablement, non seulement entre les différents types antigéniques, mais également entre les différentes souches appartenant à un même type sérologique.

Parmi les cultures sensibles qui sont couramment utilisées, nous citerons tout d'abord les cellules rénales de singe et les cellules K B, qui donnent les résultats les plus réguliers. Puis viennent les cultures primaires humaines (thyroïde - rein - amnios - chorion) et les autres lignées cellulaires (Hela, Hep$_2$ et Gey). Quant aux cellules diploïdes, elles n'ont encore été que peu utilisées dans l'étude des virus Coxsackie.

Parmi les systèmes cellulaires que nous avons personnellement utilisés, les plus sensibles ont été les cellules rénales de babouin cynocéphale et les cellules K B qui donnent des résultats comparables, puis viennent les cellules thyroïdiennes humaines, dont les résultats furent plus inconstants.

II. — L'effet cytopathogène

La multiplication des virus Coxsackie B en cultures in vitro se traduit habituellement par l'apparition de lésions cellulaires caractéristiques, identiques quels que soient le système cellulaire utilisé et les souches étudiées. Toutefois ces lésions, ne pouvant être distinguées de celles observées avec les autres entérovirus, ne sont pas spécifiques. L'étude de l'effet cytopathogène ne permettra donc qu'une orientation du diagnostic dont la confirmation sera apportée ultérieurement par l'utilisation du souriceau nouveau-né ou des tests de neutralisation.

Les modifications cellulaires déjà visibles au microscope optique sans préparation peuvent être précisées par l'utilisation de certains procédés de fixation et de coloration, par la technique des anticorps fluorescents et l'emploi du microscope électronique.

1) *Effet cytopathogène observé au microscope sans préparation*

Dans les heures suivant l'infection, l'examen microscopique de la culture au faible grossissement montre l'apparition, au sein de la nappe cellulaire,

de foyers de cellules qui s'arrondissent et deviennent plus réfringentes. Puis ces cellules, dont le cytoplasme devient granuleux et le noyau pycnotique, se détachent de la paroi de verre et tombent dans le milieu. Ces foyers de nécrose s'accroissent rapidement par leur périphérie, d'autres foyers se créent et la généralisation des lésions aboutit à la destruction complète de la culture.

Cet effet cytopathogène peut se manifester plus ou moins rapidement selon la souche, le titre infectieux et le système cellulaire utilisé.

D'après Sickles et coll. (230), les lésions produites par les virus Coxsackie B sur cellules rénales de singe apparaissent plus tardivement que celles créées par les poliovirus, habituellement dans les 3 à 7 jours suivant l'infection, et atteignent un maximum entre le 4e et le 9e jour.

Sur cellules utérines humaines, l'effet cytopathogène serait plus lent à se manifester (du 5e au 9e jour) en particulier pour les souches du type B_3 (230).

Sur amnios humain, par contre, Bernkopf et Rosen (10) observent avec le virus Coxsackie B_3 un arrondissement des cellules dès la 6e heure et Takemoto et Lerner (255) décrivent une destruction cellulaire rapide et totale dans les 48 heures suivant l'infection, avec les types B_1, B_3 et B_5.

Sur rein de hamster, les virus Coxsackie B_1, B_2, B_3 et B_4 produisent un effet cytopathogène qui apparaît précocement dans les 24 heures suivant l'inoculation et qui aboutit à une destruction complète de la nappe cellulaire en 48 heures. Par contre, la dégénérescence cellulaire produite par le type B_5 est plus lente à se manifester et n'apparaît qu'après 72 heures (Barron et Karzon, 4).

Au cours de nos travaux personnels, nous avons également observé de telles variations dans la date d'apparition des lésions cellulaires suivant les cultures utilisées :

— sur cellules rénales de babouin, l'effet cytopathogène apparaît habituellement du 2e au 4e jour avec lyse complète de la nappe cellulaire en 4 à 6 jours. Il est donc plus tardif que celui produit par les virus poliomyélitiques qui débute dès la 20e heure.

— sur cellules K B la dégénérescence est généralement plus précoce et peut être observée dès la 24e ou 48e heure.

— par contre, sur cellules thyroïdiennes humaines, elle ne se manifeste qu'au bout de 8 à 11 jours.

2) *Effet cytopathogène après fixation et coloration par l'hématoxyline-éosine.*

Les lésions observées sont à la fois nucléaires et cytoplasmiques. Elles ont été décrites notamment par BERNKOPF et ROSEN (10) sur cellules amniotiques et par SHAVER et coll. (227) sur cultures de rein de singe.

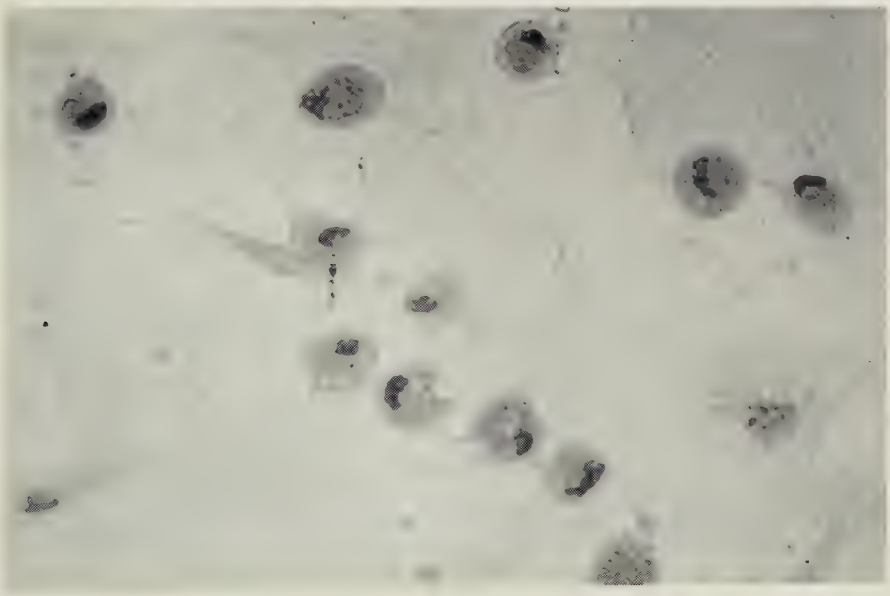
Les altérations nucléaires sont les premières à apparaître. Elles débutent habituellement vers la 5e heure par un plissement de la membrane nucléaire. Puis apparaissent à l'intérieur du noyau de larges granules fortement éosinophiles, dont le nombre va diminuer progressivement au fur et à mesure que l'infection progresse.

Les lésions cytoplasmiques, légèrement retardées, débutent vers la 6e heure par l'apparition d'une masse éosinophile, juxta-nucléaire, nettement délimitée, arrondie ou ovalaire, colorée de façon homogène par l'hématoxyline-éosine. Cette masse augmente progressivement de volume et refoule habituellement le noyau à la périphérie du cytoplasme. Les cellules présentent une tendance nette à s'arrondir. Certaines émettent des expansions cytoplasmiques généralement courtes et non ramifiées. On observe souvent une concentration des mitochondries autour de la masse cytoplasmique et des vacuoles peuvent apparaître dans l'ectoplasme périphérique.

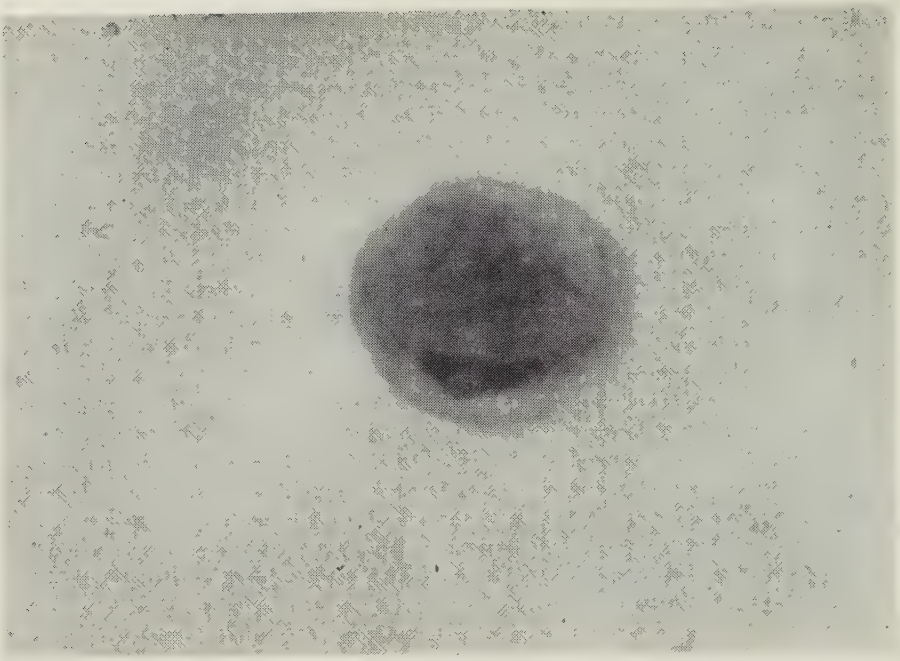
A un stade plus tardif de l'infection, les cellules sont plus petites, arrondies. La masse éosinophile occupe la majeure partie du cytoplasme. Les noyaux sont plissés, pycnotiques et ne contiennent plus de granules. On observe alors l'apparition, à la périphérie de la cellule, de granulations fortement basophiles qui vont persister jusqu'à la fin de la dégénérescence cellulaire.

Selon SHAVER et coll. (227), les lésions obtenues sur rein de singe seraient tout à fait comparables à celles observées avec les virus poliomyélitiques et E.C.H.O., avec toutefois quelques variations dans leur délai d'apparition et leur vitesse de développement. Par contre, sur cellules amniotiques humaines, BERNKOPF et ROSEN (10) ont décrit certains caractères distinctifs, permettant éventuellement de différencier les virus Coxsackie des autres entérovirus : Comparativement aux virus poliomyélitiques les lésions créées par les virus Coxsackie (en particulier Coxsackie B_3) se caractériseraient par un gonflement plus marqué des cellules, par des expansions cytoplasmiques moins ramifiées et par une séparation plus nette entre l'endoplasme éosinophile et l'ectoplasme périphérique. Ces aspects seraient également moins marqués avec les virus E.C.H.O. qui se

Culture primaire de cellules épithéliales de rein de singe, en nappe monocellulaire. Coloration à l'hémalun-éosine. Grossissement × 320 (Collection personnelle).



Effet cytopathogène de type entérovirus.
Coloration à l'hémalun-éosine. Grossissement × 320 (Collection personnelle).



Inclusion éosinophile intracytoplasmique refoulant le noyau à la périphérie de la cellule, en le plissant.
Coloration à l'hémalun-éosine. Examen à l'immersion. Grossissement × 800 (Collection personnelle).

distingueraient notamment par des lésions plus tardives et par l'apparition et la persistance de cellules à configuration polygonale ou triangulaire au sein des zones de dégénérescence.

La progression des lésions a été étudiée de façon précise par SHAVER pour les virus poliomyélitiques, mais non pour les virus Coxsackie B.

La masse éosinophile ainsi que les granulations intranucléaires ont été observées également dans des cellules non infectées soumises à différentes températures et à différents milieux. Elles traduiraient donc, selon SHAVER, l'altération de structures préexistantes dans la cellule plutôt que de nouvelles formations induites par le virus. Cependant les granules intranucléaires seraient plus larges, plus arrondies et plus éosinophiles dans les cellules infectées.

Par contre, les granulations basophiles qui apparaissent dans les stades tardifs à l'intérieur du cytoplasme n'ont jamais été retrouvées au niveau des cellules non infectées et pourraient donc être considérées comme

spécifiques de l'infection virale. Celles-ci, ainsi que la masse éosinophile et les granulations nucléaires n'ont pu être identifiées du point de vue histochimique. Elles ne sont constituées ni d'acide désoxyribonucléique, ni d'acide ribonucléique, ni de glycogène, ni de lipides.

3) *La méthode des anticorps fluorescents*
qui permet de localiser l'antigène viral formé à l'intérieur des cellules infectées, décèle une fluorescence cytoplasmique dans les cellules rénales de singe infectées avec les virus Coxsackie B et A_9 (179 - 229).

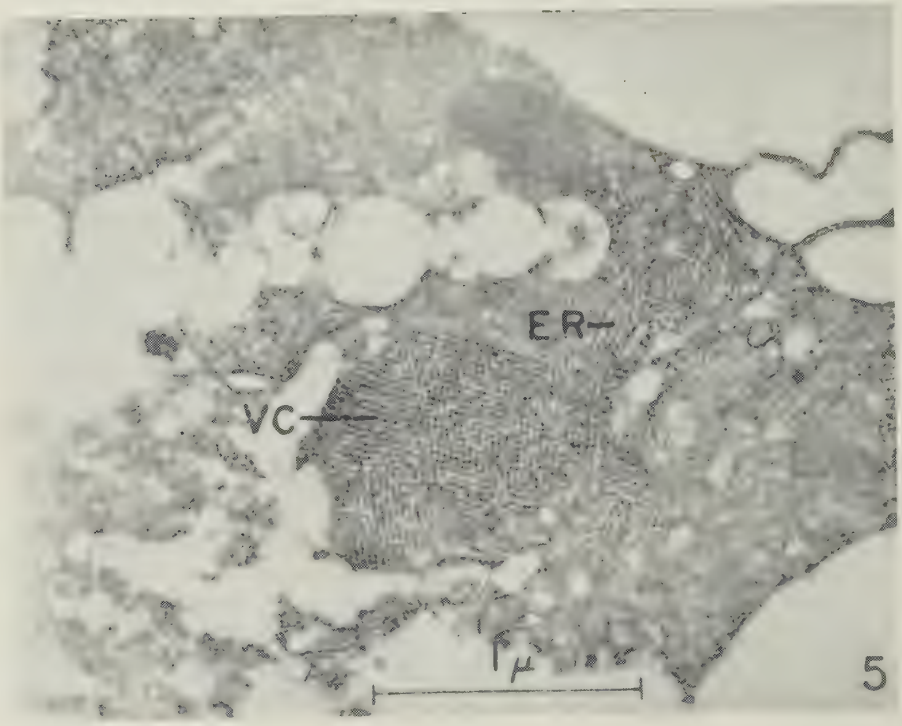
4) *Aspect des lésions cellulaires au microscope électronique.*

Elles ont été étudiées en particulier par Morgan, Howe et Rose (193), Fogh et Stuart (79) et Nunez Monteil et coll. (195). Ceux-ci ont décrit un certain nombre de modifications cytologiques associées à la présence intracellulaire du virus : rétraction cellulaire, déformation et pycnose du noyau, densification et vacuolisation du cytoplasme, fragmentation des mitochondries. De telles lésions cellulaires ne sont cependant pas pathognomoniques et peuvent être observées dans des cultures non infectées. A un stade tardif de l'infection, on voit apparaître à l'intérieur du cytoplasme, mais jamais dans le noyau, des particules denses, sphériques, mesurant approximativement 25 à 28 millimicrons de diamètre. Ces particules qui ne sont jamais retrouvées dans les cellules saines semblent bien correspondre au virus. Elles peuvent être disséminées ou groupées de façon ordonnée pour former des cristaux de forme hexagonale. Des accumulations désordonnées de particules, ainsi que des chaînettes et des formations en rosette, arrondies ou ovalaires, complètes ou incomplètes, ont également été décrites (195). Ces divers groupements peuvent être considérés comme représentant un stade initial dans le processus d'élaboration des cristaux qui ne se constitueraient que lorsque la concentration locale en particules virales deviendrait suffisante. La formation de tels cristaux n'est d'ailleurs pas propre aux entérovirus. On la retrouve avec d'autres virus humains, en particulier le virus de l'herpès, les adénovirus et le virus des verrues humaines.

Une étude plus détaillée de l'effet cytopathogène a été réalisée en 1961 par Stuart et Fogh (239) sur des cellules F L infectées avec un virus Coxsackie B_5 (souche Faulkner). Les lésions sont observées 22 heures après l'infection :

Dans les cellules arrondies et rétractées, le noyau pycnotique, à chromatine densifiée, est refoulé à la périphérie. A l'intérieur du cytoplasme

on note un développement particulièrement marqué de l'ergastoplasme qui se présente comme une double membrane bordée de particules libres de nature ribonucléoprotéique. De nombreuses et larges vacuoles sont observées sous la membrane cellulaire. Des vésicules plus petites, ainsi que des membranes multiples et souvent disposées concentriquement sont visibles à l'intérieur de certaines expansions cytoplasmiques.



Culture de cellules F L examinée au microscope électronique 22 heures après l'infection par un virus Coxsackie B_5. A noter l'étroite ressemblance entre les particules virales groupées en amas cristallin (V C) et les particules ribonucléoprotéiques alignées parallèlement aux membranes du reticulum endoplasmique (E R). Grossissement : 4 × 50.000 (D.C. Jr. Stuart et J. Fogh, 239).

A ce stade tardif, plusieurs formations nucléolaires sont fréquemment observées dans le noyau et dans le cytoplasme. Les nucléoles se présentent sous forme d'un lâche reticulum de filaments denses de 18 millimicrons de diamètre. Dans le noyau, ces filaments présentent par endroits des renflements pouvant atteindre 25 à 30 millimicrons. Cet aspect qui n'est pas retrouvé au niveau du cytoplasme périphérique traduirait un stade

précoce d'atteinte nucléolaire. L'examen à plus fort grossissement révèle la structure finement granulaire de certains filaments qui sont le support de corpuscules denses, parfois disposés en plusieurs rangées parallèles. Des corpuscules semblables sont également présents dans les espaces libres du réticulum.

Les mitochondries, après avoir subi des altérations morphologiques et une fragmentation, se raréfient au fur et à mesure que l'infection progresse. Lorsque les particules virales font leur apparition, seules quelques mitochondries d'aspect sensiblement normal sont encore visibles.

A ce stade, des cristaux de nature virale sont habituellement observés à la périphérie du cytoplasme. Ils sont constitués par des particules sphériques et denses, disposées en rangées régulières, généralement orientées parallèlement aux membranes ergastoplasmiques. Cette orientation, ainsi que l'étroite ressemblance existant entre ces particules et les granules ergastoplasmiques, permettent de penser que les cristaux se formeraient aux dépens de l'ergastoplasme.

Selon les auteurs, l'hypertrophie nucléolaire traduirait la réplication de l'A.R.N. viral spécifique qui contrôlerait la synthèse cytoplasmique des protéines virales.

ETUDE DES PLAGES

La méthode des plages, mise au point par DULBECCO (66), a été appliquée aux entérovirus par HSIUNG et MELNICK (124 - 125).

Son principe est simple. La couche monocellulaire étalée sur la paroi de verre est préalablement infectée avec une suspension virale de faible titre, ne renfermant qu'un très petit nombre de virions. Après quelques minutes nécessaires à l'adsorption des virus sur les cellules, celles-ci sont recouvertes d'une couche de milieu nutritif, rendu solide par l'incorporation de gélose et additionné d'un colorant vital, le rouge neutre. Chacune des particules du virus cytopathogène, fixée dans une cellule, se multiplie et la lyse. Grâce à l'emploi du milieu solide, les nouvelles particules virales libérées par chaque cellule infectée ne pourront diffuser à distance et n'infecteront que les cellules immédiatement voisines. Ainsi, après quelques jours d'incubation à 37°C, vont apparaître, par transparence, au sein de la nappe cellulaire colorée en rose par le rouge neutre, des plages claires, non colorées, à limites plus ou moins nettes, correspondant aux zones de dégénérescence cellulaire. Chaque plage, appréciable à l'œil nu, correspond à une particule virale initiale et dans le milieu situé au-dessus de la plage se trouve concentrée toute la descendance de cette particule.

Les applications de cette méthode sont multiples. Non seulement elle permet un titrage précis du virus étudié par la numération des plages, mais de plus, l'aspect morphologique de celles-ci, variable suivant les virus, permet un diagnostic d'orientation.

Hsiung et Melnick (125) ont étudié *les plages produites par les différents entérovirus* sur cultures cellulaires de rein de singe rhésus.

Tous les virus Coxsackie du groupe B et le virus Coxsackie A_9 donnent des plages qui apparaissent vers la 72e ou 96e heure après l'infection, parfois seulement au 5e jour pour le sérotype B_2. Ce sont des plages larges et circulaires, à contours souvent irréguliers et à centre flou par suite de la persistance de certaines cellules saines au sein de la zone de dégénérescence. Plus petites que les plages des virus poliomyélitiques, leur diamètre moyen mesuré 7 jours après l'inoculation varie de 5,7 mm à 9 mm suivant les souches.

Ces caractéristiques morphologiques sont constantes et diffèrent sensiblement de celles observées avec les virus poliomyélitiques. En effet, dans les mêmes conditions, ceux-ci produisent des zones de nécrose également circulaires, mais plus larges, et d'apparition plus rapide (48 h. à 72 h.), à bords nets et à centre clair. Les plages des virus E.C.H.O. ne sont visibles qu'après 4 à 8 jours d'incubation et leur aspect varie suivant les souches étudiées.

Leur délai d'apparition peut être influencé par différents facteurs. C'est ainsi que la nécrose cellulaire peut être retardée si les cellules utilisées sont malades ou se trouvent dans des conditions non favorables. De même leur morphologie peut varier suivant la composition du milieu, mais aussi suivant l'espèce cellulaire utilisée : les plages produites par les virus Coxsackie B sont plus larges et plus claires sur rein de Patas que sur rein de rhésus (125).

Grâce à la méthode des plages, il est également possible de séparer non seulement plusieurs virus différents présents simultanément dans un même inoculum, mais également plusieurs *mutants* d'une même souche. Choppin et Eggers (31) ont ainsi montré que la souche Powers, type B_4, pouvait donner en culture in vitro deux sortes de particules virales, antigéniquement semblables, mais différentes par certaines propriétés biologiques.

— des particules as qui, sensibles à un inhibiteur contenu dans l'agar, produisent de petites plages de 1 à 2 mm de diamètre, irrégulières et souvent floues. Elles sont sensibles aux anticorps spécifiques.

— des particules a_1 qui, insensibles à l'inhibiteur, produisent au contraire de larges plages de 7 à 10 mm de diamètre, arrondies et plus claires. Elles sont peu sensibles aux anticorps spécifiques.

L'addition de dextran D.E.A.E. à l'agar, en neutralisant l'effet de l'inhibiteur, provoque un accroissement de la taille des plages dues aux particules a_8. Le virus a_8 s'adsorbe, se multiplie, est libéré plus rapidement que le virus a_1. Tous ces caractères se sont révélés stables au cours des passages en série.

D'autres souches Coxsackie B_4 ont également été testées. Toutes présentent ces deux sortes de particules, mais avec toutefois une nette prédominance du virus a_1 lors des premiers passages. C'est pourquoi les auteurs émettent l'hypothèse que les particules a_8 dériveraient par mutation des particules a_1.

Pouvoir oncolytique des virus Coxsackie B.

Appliquant la technique de Toolan (257) qui permet la transplantation d'un tissu cancéreux chez un hôte hétérologue (animal irradié et traité par la cortisone), Suskind et coll. (168-252) ont obtenu le développement de tumeurs Hela ou K B dans la cavité péritonéale de 93 % des rats utilisés. Plusieurs virus Coxsackie B (types B_1, B_2, B_3 et B_5), inoculés au niveau de ces tumeurs, s'y sont multipliés et ont manifesté un pouvoir oncolytique rapide et intense qui s'est traduit par une nécrose massive et s'est intensifié au cours des passages successifs. Les études histologiques et cytochimiques pratiquées (168) ont montré que le processus était différent de la régression spontanée de ces tumeurs qui se produit 2 à 3 semaines après leur implantation. L'inactivation du virus par chauffage à 56° pendant 45 mn, ainsi que sa neutralisation par l'antisérum spécifique, inhibe tout effet oncolytique. Le mécanisme de cette oncolyse n'a pas été déterminé, mais il est probable qu'elle soit due à l'action cytopathogène directe du virus sur les cellules HeLa et K B, démontrée in vitro. Ces propriétés oncolytiques laissent entrevoir des applications thérapeutiques possibles en cancérologie humaine.

III. — Cycle de multiplication des virus Coxsackie Rapports virus - cellules hôtes

Différents procédés physiques et chimiques ont permis de reconstituer de façon précise le cycle du développement intra-cellulaire des virus poliomyélitiques.

Récemment Mattern et Chi (179) ont étudié le cycle de multiplication du virus Coxsackie A_9 sur cellules rénales de singe en utilisant simultanément deux méthodes : la première consiste à fractionner, à différents moments de l'infection, les cellules infectées en une fraction « nucléaire » et une fraction « non nucléaire » et à étudier dans chacune de celles-ci la répartition de l'A.R.N. viral et de la particule complète. La seconde permet de localiser l'antigène viral par l'utilisation d'anticorps rendus fluorescents selon la méthode de Coons (566).

Par contre le cycle de multiplication des virus Coxsackie du groupe B n'a pas été étudié de façon précise. Cependant les quelques données que nous possédons grâce à l'observation au miscroscope électronique et à l'immunofluorescence nous permettent de penser qu'il doit être très proche de celui observé avec les autres entérovirus.

Ce cycle évolue en 4 phases successives :

1. — *La phase de fixation du virus sur la cellule.* Elle a été étudiée en particulier par Philipson et Bengtson (203) qui ont décrit la fixation de plusieurs entérovirus, dont le virus Coxsackie B_3, sur cellules rénales de singe et sur cellules Hela. Celle-ci se déroule en 2 temps :

a) *une phase d'adsorption réversible*, qui se fait sur des récepteurs spécifiques situés à la surface de la cellule sensible. Cette phase semble être sous la dépendance de forces électrostatiques. Elle est plus lente en l'absence d'ions Ca++ et Mg++. Elle ne dépend pas de la température. La fixation du virus sur la cellule est réversible sous l'action de différents réactifs, en particulier la chymotrypsine. Par contre, si l'urée agit sur les virus poliomyélitiques, elle ne détache pas le virus Coxsackie B_3. A ce stade, l'infection cellulaire peut être encore neutralisée par l'antisérum spécifique.

b) *puis survient la phase de fixation irréversible.* L'immunsérum spécifique n'a plus de pouvoir neutralisant et le traitement par la chymotrypsine ne permet plus de récupérer le virus. Cette phase est sous la dépendance de la température.

La pénétration du virus dans la cellule demande, dans des conditions normales, 1 à 2 heures. Puis il semble migrer vers le noyau et son sort devient obscur. Selon Choppin et Eggers, l'adsorption du virus Coxsackie B_4 (souche Powers) sur cellules rénales de singe n'est pas complète avant 6 heures (31).

Il est probable que le virus, après sa pénétration dans la cellule, subit une décapsidation, c'est-à-dire se décompose d'une part en son

enveloppe protéique, d'autre part en son acide nucléique. Il devient alors sensible à la ribonucléase et à la trypsine et ne peut plus être retrouvé par broyage des cellules.

2. — *La phase d'éclipse*, au cours de laquelle le virus a totalement disparu et ne peut plus être décelé dans la cellule. Sa durée serait de 2 h. 30 à 3 h. 30 (31).

3. — *La phase de maturation :* l'acide ribonucléique spécifique et les protéines virales vont apparaître d'abord séparément, puis vont s'assembler pour donner le virus complet.

Au cours de l'étude du cycle du virus Coxsackie A_9, MATTERN et CHI ont décelé une fluorescence cytoplasmique (traduisant l'apparition des protéines antigéniques) qui atteint 10 % des cellules vers la 4e heure, 20 % à la 6e heure et 50 % à la 9e heure, puis qui disparaît.

Ils ont également observé tout d'abord une faible augmentation de l'acide ribonucléique dans la fraction « nucléaire » (traduisant peut-être l'association de l'A.R.N. viral et du noyau cellulaire), puis une augmentation beaucoup plus importante de cet acide nucléique (200 à 2.000 fois) dans la fraction non nucléaire.

Dans le cas des virus Coxsackie B et A_9, des particules virales complètes peuvent être détectées au microscope électronique dans le cytoplasme des cellules infectées à partir de la 16e heure (79 - 193 - 239), mais jamais à l'intérieur du noyau.

Donc, si le noyau semble être le lieu d'initiation de la replication virale, peut-être par la production d'un A.R.N. messager, la synthèse de l'acide ribonucléique et des protéines ainsi que la maturation du virus complet semblent se faire uniquement au niveau du cytoplasme.

4. — *Puis la phase de libération :* les particules virales vont s'accumuler dans la cellule qui éclate et libère le virus.

Le rôle des récepteurs spécifiques dans le déterminisme de la sensibilité des cellules de primates aux entérovirus a été démontré par HOLLAND et Mac LAREN (114-115).

Pour qu'un entérovirus puisse se fixer et pénétrer à l'intérieur d'une cellule en culture, il est nécessaire que celle-ci possède de tels récepteurs.

Leur spécificité est rigoureuse. Les récepteurs cellulaires correspondant aux virus Coxsackie B permettent l'adsorption de ces virus, mais non des

virus Coxsackie A, ni des virus poliomyélitiques, ni de tout autre virus. Cette spécificité a été démontrée par les travaux de Crowell (43-46) : En présence de sérum humain dans le milieu, il est possible d'obtenir une culture de cellules Hela infectée de façon latente par un virus Coxsackie B_3 (46) ou B_5 (43). Le virus se fixe sur les cellules, y pénètre, s'y multiplie, est libéré dans le milieu, mais sans produire de manifestations cytopathiques. Cet état « porteur » persiste lors des repiquages en série et serait en rapport avec la présence d'un facteur inhibiteur contenu dans le sérum humain.

Or, si l'on surinfecte une telle culture avec un autre virus Coxsackie du groupe B, on constate que ce dernier ne peut pénétrer qu'en très faible quantité dans les cellules « porteuses ». Ceci laisse supposer que les récepteurs spécifiques, déjà bloqués par la première infection, sont identiques pour les deux virus. Par contre, si l'on surinfecte la culture avec un virus d'un autre groupe (virus poliomyélitique, vaccinal, Coxsackie A_9 ou adénovirus), celui-ci pénétrera normalement dans la cellule et s'y multipliera. Les phénomènes d'interférence observés en culture entre les virus poliomyélitiques et les virus Coxsackie B ne semblent donc pas le résultat d'une compétition au niveau des mêmes sites cellulaires. La production d'une substance voisine de l'interféron peut être invoquée.

La spécificité des récepteurs est valable pour la particule virale complète, mais non pour l'acide nucléique isolé. Il est en effet possible d'infecter des cellules habituellement résistantes, donc démunies de récepteurs spécifiques, en utilisant l'acide nucléique seul. Mais la multiplication virale est alors limitée à un seul cycle, car elle donne naissance à des particules complètes qui ne pourront infecter les cellules voisines. Le pouvoir infectieux de l'A.R.N. isolé est beaucoup plus faible que celui du virus complet (116 - 253). Récemment les travaux de Cords et Holland (41 bis) ont confirmé l'importance de la capside protéinique virale dans le déterminisme de cette spécificité. Ainsi si l'acide nucléique d'un poliovirus de type I (qui ne se multiplie pas in vivo chez la souris, ni in vitro sur tissus embryonnaires murins) est associé à la capside protéinique d'un virus Coxsackie B_1 (souche Conn-5), il acquiert la spécificité cellulaire de ce dernier et devient capable de pénétrer et de se reproduire in vivo et in vitro dans les cellules de cet animal. Mais comme précédemment il ne se produira qu'un seul cycle de multiplication, les nouveaux virions formés étant des poliovirus complets.

Il existerait deux sortes de récepteurs cellulaires : les récepteurs liés à la fraction ribosomale qui permettraient seulement l'adsorption réversible et les récepteurs de la membrane cytoplasmique nécessaires à la

pénétration du virus dans la cellule. Ils semblent également intervenir sur la décapsidation du virus qui précède la phase d'éclipse. Ainsi Crowell (43) a montré que, dans une culture de cellules Hela « porteuse » du virus Coxsackie B_5 et surinfectée par les types B_1 et B_3, seul un petit nombre de ceux-ci pouvaient pénétrer à l'intérieur des cellules, mais la plupart ne semblaient pas subir de décapsidation, puisqu'ils pouvaient être récupérés intacts en quantité relativement importante (86% pour le type B_3 — 51 % pour le type B_1) une heure après l'infection.

La nature de ces récepteurs cellulaires n'est pas encore parfaitement connue. Ils seraient constitués de lipoprotéines.

Dans certains cas, des tissus d'animaux non sensibles à un virus in vivo peuvent acquérir des récepteurs spécifiques en culture in vitro. Ainsi que l'a montré Kunin (149), le virus Coxsackie B_1 ne détermine pas de lésions rénales chez le singe in vivo et n'est pas adsorbé par un broyat de cet organe in vitro, par contre il se multiplie facilement sur des cultures de cellules rénales de singe. Mais cette acquisition de récepteurs lors de la culture n'est pas constante et de nombreuses cellules résistantes in vivo, le restent in vitro.

EFFETS DES FACTEURS ENVIRONNANTS SUR LE CYCLE DE MULTIPLICATION DES VIRUS COXSACKIE B

De nombreux facteurs peuvent agir sur le cycle de multiplication des virus Coxsackie B. Parmi ceux-ci nous citerons :

I. — Les effets de la température.

Celle-ci intervient à la fois sur l'adsorption et sur la synthèse intracellulaire du virus :

Sur l'adsorption : D'après Philipson et Bengtson (203) la phase de fixation irréversible du virus Coxsackie B_3 sur cellules rénales de singe et sur cellules Hela est sous la dépendance de la température avec un optimum à 37°C. Par contre, cette phase est inhibée à des températures plus élevées, ce qui permet d'envisager l'intervention d'un processus de nature enzymatique lors de la pénétration du virus dans la cellule sensible.

Sur la synthèse virale intracellulaire : Lwoff et coll. (170), au cours de leurs travaux sur *les virus poliomyélitiques*, ont démontré que la tem-

pérature jouait un rôle important dans la synthèse de ces virus. Pour chaque souche, il existe une température optima de multiplication virale, proche de 37°C, pour laquelle le rendement est de 100 %. En dessous et au-dessus de cet optimum, le rendement diminue progressivement. En fait, seule une courte période du cycle de multiplication est sensible à la température. Elle semble correspondre à la synthèse de la R.N.A. polymérase.

On a pu définir un cœfficient, le Rt, qui est la température supramaximale pour laquelle le rendement est de 90 %. Ce cœfficient est variable selon les souches qui sont dites « chaudes » ou « froides » selon que leur Rt est élevé ou bas. Il existe une corrélation entre le Rt et la virulence de la souche : plus il est élevé, plus la souche est virulente. Par contre les souches vaccinales ont un Rt bas, généralement voisin de 35°C ou 36°C. Ce cœfficient, qui correspond à un véritable marqueur génétique, est d'un grand intérêt. En effet, si un accident paralytique survient à la suite d'une vaccination poliomyélitique, il sera possible en isolant le virus chez le malade et en déterminant son Rt, de savoir si c'est la souche vaccinale ou une souche sauvage qui est responsable.

L'étude de l'action de la température sur le développement intracellulaire *des virus Coxsackie B* montre certaines analogies avec les virus poliomyélitiques. En effet d'après les travaux de Boring et Levy (12) la température optima pour la multiplication du virus Coxsackie B_1 sur cellules Hela est de 36°C. Par contre, on observe une diminution progressive de la production virale aux températures supérieures et inférieures et une inhibition complète en-dessous de 25°C, et au-dessus de 40°C. A ces températures extrêmes, le virus n'est plus libéré dans le milieu et le petit nombre de particules virales observées à l'intérieur des cellules représentent le virus adsorbé lors de la période d'infection initiale à 36°C. Les particules virales intracellulaires, ainsi observées à 25°C, sont cependant capables de se multiplier, si les cellules sont replacées à 36°C.

Des résultats comparables ont été obtenus *in vivo* chez des animaux. Lwoff, Tournier et Carteaud (171) ont montré qu'en faisant varier la température interne de la souris, il était possible de modifier l'évolution de la poliomyélite expérimentale. L'hyperthermie diminue la gravité de la maladie alors que l'hypothermie l'augmente. De même selon Walker et Boring (264), l'élévation de la température corporelle de l'animal entrave la multiplication du virus Coxsackie B_1 et provoque sa disparition rapide. Expérimentalement l'hyperthermie est donc capable d'influencer favorablement l'évolution d'une maladie virale. Ces résultats permettent d'entrevoir le rôle bienfaisant de la fièvre en pathologie humaine.

2. — Les effets du pH.

Ils ont été étudiés par Boring et Levy (12) avec le virus Coxsackie B_1. L'abaissement du pH du milieu n'entraîne pas de diminution importante de la capacité d'adsorption du virus sur les cellules Hela : celui-ci est aussi facilement adsorbé à pH 6,6 qu'à pH 7,4. Par contre, il intervient sur la multiplication intracellulaire du virus. Le pH optimum est de 8,1. A pH 6.6 les cellules produisent mille fois moins de particules virales qu'à pH 7.4. Cependant cet effet est réversible par ajustement du pH à 7,4 à la 6e heure qui suit l'infection, ce qui indique que les titres plus bas obtenus à pH 6,6 ne sont pas dus à l'inactivation du virus par l'acidité du milieu, mais à l'inhibition d'un processus du cycle de multiplication.

De même le développement du virus poliomyélitique est entravé par un pH acide.

Le métabolisme des cellules en culture détermine une production d'acide lactique et, par suite, une acidification rapide du milieu qui peut être nuisible au développement des virus Coxsackie B. Il est donc nécessaire que le milieu contienne un système tampon capable de maintenir le pH au voisinage de la neutralité.

In vivo, au niveau des foyers d'infection, on observe fréquemment une chute du pH local aux environs de pH 6. Cette acidité pourrait jouer un rôle favorable dans l'évolution de l'infection en entravant la multiplication virale.

3. — Les effets de la composition du milieu.

Le rôle *des électrolytes* est important. L'adsorption du virus sur les cellules sensibles en solution glucosée isotonique est très faible.

La production du virus Coxsackie B_2 sur cellules rénales ou testiculaires de singe est approximativement 500 à 2.000 fois plus élevée dans un milieu contenant 0,4 g/l de ClK, que dans un milieu déficient en ion potassium. Celui-ci peut être éliminé, sans effet sur la production virale, à partir de la 12e heure qui suit le début du cycle infectieux. Il ne serait pas nécessaire à la pénétration du virus dans les cellules, mais il agirait plutôt en stimulant la glycolyse cellulaire et interviendrait donc dans un processus énergétique (Zuschek, 276). Toutefois de tels résultats n'ont pas été obtenus avec le virus Coxsackie B_3.

La production du virus Coxsackie B_1 sur cellules Hela est inhibée si le milieu est déficient en bicarbonate (Chang, 29). La situation peut être renversée par l'addition au milieu de bicarbonate, d'A.R.N., d'extraits

enzymatiques de levure, d'adénine, guanine, cytosine et uracile. Il est donc possible d'envisager l'influence du bicarbonate sur la synthèse de l'A.R.N. spécifique.

La multiplication virale dans des cellules maintenues en survie en présence d'une solution saline équilibrée est favorisée par l'addition de *glucose* ou de *glutamine* (12).

Du sérum de veau non dialysé, à faible concentration (2 %), permet une production de virus égale à celle obtenue sur milieu complet de Eagle. L'addition du sérum à ce milieu augmente la production de 10 fois (12).

Tyndall et Ludwig (259 - 260) ont étudié l'action de plusieurs *amino-acides* sur la multiplication du virus Coxsackie B_3 sur quatre milieux différents (rein de lapin - cœur de singe - endothelium vasculaire d'embryon de poulet - cellules Hela). Seule la l-cystine (ou la cystéine) stimule de façon marquée la production virale sur ces quatre systèmes cellulaires. Dans le cas présent, elle ne semble pas intervenir sur l'adsorption du virus sur les cellules hôtes, mais sur la synthèse intracellulaire du virus. Le glutathion, l'acide ascorbique et les autres substances réductrices ne peuvent la remplacer. Mais de tels résultats n'ont pas été observés avec le virus Coxsackie B_1 dont la synthèse sur cellules Hela ne nécessite ni l-cystine, ni autres acides aminés dans le milieu de culture (12). De même le virus poliomyélitique type II est capable de se multiplier sur cellules de cœur de singe en l'absence de l-cystine.

Il semble donc que les facteurs nutritionnels requis pour permettre la multiplication d'un virus sur un système cellulaire dépendent à la fois du virus et du type de culture utilisée.

4. — Action de certains composés chimiques.

L'action de certains *réactifs sulfhydriles* et *polysulfides* sur les entérovirus a été particulièrement étudiée.

En 1960, Philipson et Choppin (204) ont démontré que de nombreux réactifs sulfhydriles tels que le p-Chloromercuribenzoate (P.C.M.B.) étaient capables d'inactiver le pouvoir infectieux et l'activité hémagglutinante de nombreux entérovirus. Les virus Coxsackie B_3 et E.C.H.O.$_7$ sont particulièrement sensibles à cette action.

De même Hirst a montré que certains disulfides et polysulfides, en particulier la cystine, non seulement stabilisaient le poliovirus type I,

mais déterminaient également un certain degré d'inactivation variable suivant le composé utilisé. Ceci a été confirmé par POHJANPELTO (208) qui a étudié l'action stabilisante et inactivante de la l-cystine sur les virus Coxsackie A_9 et B_3. L'inactivation est particulièrement marquée avec le virus Coxsackie B_3.

Le pouvoir infectant des entérovirus est également inhibé par une forme oxydée du 2,3 dimercaptopropanol ou B.A.L., polymère renfermant des liaisons disulfides (205).

L'inactivation causée par le P.C.M.B., la cystine et le B.A.L. est réversible sous l'action de certains composés thiols tels que la cystéine ou le glutathion réduit.

Tous ces composés agiraient suivant un même mécanisme, par combinaison avec les groupements — SH des protéines virales avec création de liaisons disulfides entre le virus et l'agent inactivant. Le fait que ces composés soient susceptibles d'interférer sur l'adsorption du virus sur les cellules sensibles, suggère que les groupements — SH viraux interviennent dans les rapports virus-cellules hôtes.

Le 2 — (α hydroxybenzyl) benzimidazole (H.B.B.) et la guanidine sont des inhibiteurs sélectifs de la multiplication des entérovirus.

Dès 1961, CROWTHER et MELNICK (47) ont montré que la guanidine à la concentration de 50 microgrammes par ml déterminait une inhibition importante de la multiplication des virus poliomyélitiques en cultures cellulaires de rein de singe. Son action était moins marquée sur les autres entérovirus étudiés, en particulier sur le virus Coxsackie B_6.

TAMM et EGGERS (256), plus récemment, ont fait une étude comparative de la guanidine et de l'H.B.B. : Si la structure de ces deux composés est très différente, leur action est sensiblement la même. Ils n'empêchent pas l'adsorption et la pénétration du virus dans les cellules, mais ils agissent plus tardivement et produisent une inhibition même s'ils ne sont donnés que pendant la phase d'accroissement exponentiel de la multiplication virale. Tous deux semblent agir en bloquant la synthèse de l'A.R.N. viral dans les cellules infectées : dans les cellules de rein de singe traitées par l'H.B.B. et infectées avec les virus Coxsackie A_9 et B_4, la synthèse de l'A.R.N. spécifique se trouve réduite d'au moins 90 % (73). De même, on observe une inhibition de la synthèse des protéines virales, en particulier de l'antigène fixant le complément. Mais on ne connaît pas encore le mecanisme exact de cette action. Il ne semble pas que l'H.B.B. puisse agir comme antagoniste de certains constituants nécessaires à la

synthèse de l'acide nucléique, puisque l'adénine, la guanine, la cytosine et l'uracile ne peuvent entraver son effet inhibiteur et que l'A.R.N. de la cellule hôte se synthétise normalement. Deux hypothèses ont été formulées par Eggers et Tamm (73) : l'H.B.B. pourrait se combiner spécifiquement avec l'A.R.N. viral et le rendre incapable de toute réplication, ou bien il pourrait inhiber un enzyme spécifique intervenant dans la synthèse de cet acide nucléique.

De telles données expérimentales permettent d'envisager des applications thérapeutiques futures. Mais jusqu'ici toutes les expériences tentées in vivo sur des animaux ont échoué. Aucun de ces composés ne s'est montré capable de protéger l'animal infecté, peut-être en raison de l'apparition de mutants résistants.

5. — L'effet des corticoïdes.

Coraggio et coll. (41) ont étudié l'action de la prednisolone sur l'activité cytopathique et la multiplication du virus Coxsackie B_2 sur cellules rénales humaines.

Elle provoque une évolution accélérée et une aggravation des lésions cellulaires si elle est additionnée à la culture dès le début de la croissance cellulaire, avant l'infection virale.

Par contre, l'adjonction de prednisolone au milieu de culture, à la même concentration, mais une heure après l'infection, provoque un ralentissement de l'évolution. Avec de faibles doses infectieuses, on observe même une inhibition complète de l'effet cytopathogène, mais non de la multiplication virale. La quantité de virus produit est en effet identique à celle obtenue sur des cultures témoins infectées avec les mêmes doses.

Selon les auteurs, ce stéroïde provoque vraisemblablement une altération des rapports virus-cellules hôtes qui se traduit par une dissociation entre les lésions cellulaires et la multiplication virale.

6. — L'action de l'interféron.

De Sommer et coll. (233) ont montré qu'en présence d'Interféron l'œuf de poule embryonné infecté avec de l'A.R.N. poliomyélitique isolé était incapable de synthétiser des particules virales complètes. Le mécanisme d'action de l'Interféron n'est pas encore connu. Il empêcherait la synthèse de l'A.R.N. viral.

Nous n'avons actuellement aucune donnée concernant la possibilité d'une inhibition de la synthèse des virus Coxsackie B sur cultures cellulaires par l'Interféron ou toute autre substance apparentée.

IV. — Le pouvoir hémagglutinant

Certaines souches de virus Coxsackie B appartenant *aux types* B_1, B_3, B_5 sont capables de se fixer in vitro sur des hématies humaines du groupe O et de provoquer leur hémagglutination (Goldfield et coll., 92 - Rosen et Kern, 220). Cette fixation est en rapport avec des récepteurs spécifiques situés à la surface des hématies sensibles, très voisins des récepteurs cellulaires précédemment décrits (Philipson et Bengtson, 203).

Ces récepteurs globulaires ne sont pas détruits au cours de l'hémagglutination. De nature protéinique, ils sont sensibles aux enzymes protéolytiques. Ils sont spécifiques d'espèce : seuls les globules rouges humains fixent les virus Coxsackie B.

L'adsorption des virus sur les hématies se fait également en deux étapes : une phase d'adsorption réversible, sensible à la chymotrypsine, mais indépendante de la température, et une phase de fixation irréversible, non sensible à la chymotrypsine, mais dépendante de la température. De même que les récepteurs cellulaires, les récepteurs globulaires se combineraient aux groupements — SH des protéines virales, puisque la fixation du virus sur les hématies est inhibée par le P.C.M.B., le B.A.L. et la cystine.

Différents facteurs peuvent agir sur l'hémagglutination. Ils ont été étudiés en particulier par Kern et Rosen (140). Nous citerons :

— *L'effet de la température.* L'adsorption du virus Coxsackie B_3 sur les hématies humaines se fait aussi bien à 4°C qu'à 37°C. Les titres hémagglutinants obtenus à ces deux températures sont identiques (203). Par contre, avec les virus Coxsackie B_1 et B_5 ces titres sont maxima à 37°C. Ils sont nettement moins élevés à 4°C (140).

— *L'effet du pH.* Les hémagglutinines des virus Coxsackie B sont actives entre pH 5,5 et 8. Les titres maxima sont obtenus à pH 7,4 pour les types B_1 et B_5 et à pH 5,8 pour le type B_3, à 37°C. Cependant de légères variations sont observées selon la température et selon le type de globules rouges utilisés.

— *Le type d'hématies.* Les titres hémagglutinants sont plus élevés avec

les hématies humaines de nouveau-nés qu'avec les hématies d'adultes, quelle que soit la température. A 37°C, ils sont 4 fois plus élevés.

La fixation des virus sur les hématies se ferait donc sur des récepteurs globulaires, très proches des récepteurs spécifiques décrits au niveau des cellules sensibles et suivant un mécanisme semblable. Ainsi la diminution de l'activité hémagglutinante s'accompagne-t-elle habituellement d'une diminution du pouvoir infectant.

CHAPITRE III

LE POUVOIR ANTIGÉNIQUE

Le pouvoir antigénique des virus Coxsackie B se traduit par l'apparition d'anticorps spécifiques chez l'homme ou l'animal d'expérience infectés. Ces anticorps, mis en présence de l'antigène correspondant, donnent lieu à une réaction antigène-anticorps qui peut être détectée par les réactions de neutralisation, de fixation du complément, d'inhibition de l'hémagglutination, de précipitation ou par les tests d'immunofluorescence.

Les anticorps neutralisants ont été mis en évidence dès la publication princeps de Dalldorf (56) et ont permis de différencier antigéniquement les différentes souches isolées. Peu de temps après, la réaction de fixation du complément était appliquée aux virus Coxsackie par Casals, Olitsky et Murphy (26). En 1957, Goldfield et coll. (92) et plus tard Rosen et coll. (220) ont montré que certains types de virus Coxsackie B pouvaient agglutiner in vitro les hématies humaines du groupe O. Enfin les tests de précipitation sur gélose et les méthodes d'immuno-fluorescence ont été utilisés récemment dans l'étude de ces virus.

Sur la base des réactions de neutralisation, on a pu classer les virus Coxsackie en plusieurs type sérologiques. En 1957 le Comité des Entérovirus (35) reconnaissait officiellement 19 types antigéniques dans le groupe A et 5 types antigéniques dans le groupe B. Depuis, d'autres souches ont été découvertes. Actuellement le groupe A comprend 23 sérotypes distincts (A_1 à A_{24} ; le type A_{23} a été identifié au virus E.C.H.O.$_9$) et le groupe B, 6 sérotypes.

I. — La structure antigénique des virus Coxsackie B

La structure antigénique des virus Coxsackie est encore mal connue.

Il est possible, dans certaines conditions, de dissocier le pouvoir infectant du virus de ses antigènes. Ainsi le virus inactivé par la chaleur ou les ultra-sons conserve son pouvoir de fixer le complément (27). Par contre, le pouvoir infectant et l'hémagglutinine disparaissent ensemble du

milieu infecté après adsorption sur des hématies humaines du groupe O, ce qui laisse supposer que cette dernière est étroitement liée à la particule virale (92). Les sérotypes B_1, B_3 et B_5 sont hémagglutinants (92 - 220).

Les différentes fractions antigéniques n'ont pas encore été identifiées de façon précise.

En 1962, Mme Grasset (93) a démontré, par la technique de double diffusion en milieu gélifié, la présence d'antigènes précipitants spécifiques de types pour les sérotypes B_1, B_3, B_4, B_5, mais non pour les types B_2 et B_6.

Récemment en 1963, Schmidt et coll. (225 - 226) ont pu mettre en évidence des *antigènes de groupe*. Après concentration de suspensions virales (cellules Hela infectées avec les virus Coxsackie B et A_9), ils ont pu séparer 7 fractions par centrifugation en gradient de densité. Parmi celles-ci, la fraction 4 (qui contient la majeure partie de l'infectiosité) et les fractions 6 et 7 (faible pouvoir infectieux) sont les plus actives sérologiquement. Ces différentes fractions ont été testées par la méthode de précipitation en gélose selon la technique d'Outcherlony et par la réaction de fixation du complément en présence d'immunsérums humains et animaux, et ceci pour tous les virus Coxsackie B et A_9 :

En ce qui concerne *les types* B_1, B_3, B_5 *et* A_9 :

— *la fraction* 4 précipite uniquement avec les sérums spécifiques de type. Elle fixe le complément avec l'immunsérum de singe homologue, mais non avec les sérums humains homotypiques, ni hétérotypiques, même à forte concentration. Cette différence d'activité selon l'origine du sérum n'est pas expliquée.

Elle semble donc correspondre à un antigène spécifique de type.

— *les fractions* 6 *et* 7 précipitent avec tous les sérums. L'antigène précipitant de groupe se trouve soit dans la fraction 6, soit dans la fraction 7, soit dans les deux.

Elles fixent le complément avec le sérum de singe homologue et avec les sérums humains homotypiques et hétérotypiques.

Elles correspondraient donc à un antigène de groupe.

Il est possible par chauffage à 56 °C pendant 30 minutes de transformer la fraction spécifique de type en fraction spécifique de groupe. L'antigène de groupe pourrait donc représenter un produit de dégradation de l'antigène de type.

Avec les types B_4 *et* B_6 il a été impossible de séparer l'antigène précipitant de type de l'antigène précipitant de groupe contenu dans les fractions 6 et 7. Ces dernières donnent une réaction de fixation du complément de « groupe ».

Le virus Coxsackie B_2 n'a pas donné de fractions précipitantes en gradient de densité. Certaines fixent le complément, mais très faiblement.

Les fractions 1, 2, 3 *et* 5 n'ont pas d'activité antigénique connue.

Il semble donc exister deux antigènes fixant le complément, l'un thermolabile et spécifique de type, l'autre thermostable et spécifique de groupe.

Il y aurait également une relation étroite entre le pouvoir précipitant et le pouvoir de fixer le complément. Celle-ci est confirmée sérologiquement : les anticorps précipitants, de même que les anticorps fixant le complément apparaissent précocement et disparaissent rapidement. Par contre, il n'y a pas de rapport entre l'évolution de ces anticorps et celle des anticorps neutralisants.

A l'intérieur d'un même sérotype, toutes les souches ne possèdent pas la même activité antigénique. Wigand et Sabin (271 - 272) ont décrit des souches dites « primes » qui ne sont que faiblement neutralisées par l'antisérum de la souche prototype, alors que l'antisérum dont elles déterminent l'apparition, les neutralise fortement, ainsi que la souche prototype. Ceci a été observé en particulier avec la souche Burrier, type B_4. D'autres souches appartenant aux types B_2, B_3 et B_4 ne présentent également qu'une faible réaction croisée avec leur prototype respectif.

D'autre part, certains sérotypes sont faiblement antigéniques. Ainsi le prototype B_5 donne chez le hamster et le cobaye des titres neutralisants beaucoup plus faibles que les autres prototypes. L'antisérum B_5 obtenu chez ces animaux ne neutralise que faiblement le virus homologue. Il sera donc nécessaire de l'utiliser à la dilution de 1/4 au lieu de 1/20 pour réaliser le typage immunologique des souches (89). La méthode des plages peut être utile pour détecter des anticorps présents en faible quantité.

II. — Les relations antigéniques entre les différents sérotypes de virus Coxsackie B et les autres entérovirus

Des réactions croisées peuvent être observées entre les souches d'un même type et des antisérums d'un autre type, permettant de suspecter des *communautés antigéniques entre les différents sérotypes de virus Coxsackie B.* Elles sont plus marquées avec les sérums humains qu'avec les sérums animaux. Elles ont été décrites notamment dans les réactions de neutralisation, de déviation du complément et de précipitation.

a) *Réaction de neutralisation.*

L'immunsérum prototype B_1 obtenu chez le hamster a pu neutraliser le virus Coxsackie B_4 à la dilution de 1/4, mais non de 1/10 (89). De même WENNER (269) décrit une relation antigénique entre les virus Coxsackie B_1 et B_5.

L'infection chez l'homme peut se traduire par l'apparition d'anticorps neutralisants homologues, mais également hétérologues. GIRARDI et coll. (89) ont observé au cours d'une infection à virus Coxsackie B_2 (isolé sur cellules Hela) l'apparition d'anticorps de type B_1. De même, certains sujets infectés avec un virus Coxsackie B_3 ou B_5 ont développé des anticorps pour le type B_4. Le titre des anticorps homologues est généralement supérieur à celui des anticorps hétérologues. Cependant GIRARDI signale le cas d'un malade qui, infecté avec un virus Coxsackie B_2, n'a présenté qu'une légère augmentation des anticorps B_2 et une élévation beaucoup plus marquée d'anticorps hétérotypiques de type B_1 et B_3.

b) *Réaction de fixation du complément.*

L'infection chez l'homme peut également faire apparaître des anticorps fixant le complément de types hétérologues. Des réactions croisées ont été décrites entre les types B_1 et B_3 (106 - 194) et entre les types B_3 et B_4 (106 - 133).

Une telle réponse hétérotypique a été observée chez des singes infectés par voie orale, musculaire ou intradermique (148). Mais il existe dans le sérum de singes normaux rhésus et cynomolgus des substances capables de fixer le complément en présence de certains antigènes Coxsackie B (146).

c) *La réaction de précipitation en gélose selon la technique* d'OUCHTERLONY a permis de mettre en évidence un antigène précipitant commun aux différents sérotypes Coxsackie B (225).

Les antigènes bruts (suspensions de cellules Hela infectées et concentrées 200 fois) obtenus à partir des types B_1, B_3, B_4, B_5, B_6 et A_9 ne précipitent qu'avec les sérums de singes spécifiques de type. Par contre, en présence de sérums humains, ces mêmes antigènes peuvent donner une réaction de précipitation non seulement avec les sérums homotypiques, mais aussi avec les sérums hétérotypiques. Avec ces derniers, on observe deux lignes de précipitation qui traduisent l'existence de deux antigènes précipitants différents, l'un spécifique de type, l'autre spécifique de groupe, correspondant probablement à ceux qui ont été isolés en gradient de densité.

Le virus Coxsackie B_2 se comporte différemment. Pour mettre en évidence une activité précipitante avec le sérum immun animal ou humain, il est nécessaire que l'antigène brut soit concentré 400 fois ou plus (au

lieu de 200 fois). De plus, il n'a pas été possible de séparer les deux antigènes précipitants.

Des réactions croisées par fixation du complément ont été décrites avec certains virus E.C.H.O. et poliomyélitiques :

Sandford et Sulkin (223) ont observé de telles réactions entre le virus Coxsackie B_3 et l'antisérum E.C.H.O.$_6$ et entre le virus E.C.H.O.$_4$ et l'antisérum Coxsackie B_4. Johnsson et coll. (133) et Neva et Malone (194) ont décrit une élévation des anticorps E.C.H.O.$_6$ lors d'une infection à virus Coxsackie B_3. A la IV^e Conférence Internationale de la poliomyélite en 1957, Johnsson signale également des relations croisées non seulement entre les virus Coxsackie B_3 et B_4, mais également entre ces deux virus et les virus E.C.H.O.$_{4, 6 \text{ et } 9}$. L'étude des réponses antigéniques chez des sujets infectés naturellement ou expérimentalement par différents entérovirus a permis à Halonen et coll. (106) de déceler des relations antigéniques entre les virus Coxsackie $B_{1, 3, 4, 5}$ et certains virus E.C.H.O. (types 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 16 et 20).

Des réactions croisées ont également été décrites par Robba et Virat (217) entre les sérums poliomyélitiques types II et III et l'antigène Coxsackie B_4 et entre le sérum poliomyélitique type II et l'antigène Coxsackie B_5. De même, des sérums de malades chez lesquels ont été isolés soit un virus Coxsackie A, soit un virus poliomyélitique, peuvent fixer le complément en présence de certains antigènes du groupe B.

De telles réactions croisées limitent beaucoup l'intérêt pratique de la réaction de déviation du complément dans le diagnostic des infections à virus Coxsackie.

Aucune relation antigénique n'a jamais été décrite entre les virus Coxsackie B et des virus appartenant à un autre groupe que celui des entérovirus.

L'apparition de réactions croisées chez l'homme et chez l'animal peut être due à *une communauté antigénique* entre les différents virus. Nous avons vu antérieurement que certains virus Coxsackie (B_1, B_3, B_4, B_5, B_6 et A_9) possèdent des antigènes précipitant et fixant le complément spécifiques de « groupe ». Mais il peut s'agir également, *soit d'une infection multiple, soit d'une réponse anamnestique.*

La possibilité de telles réponses anamnestiques hétérotypiques, en ce qui concerne *les anticorps déviant le complément*, a été démontrée par Mietens et coll. (191) chez des cobayes infectés successivement avec différents entérovirus :

Ces cobayes préalablement infectés avec le virus poliomyélitique type I et un virus Coxsackie B_5 développent, après plusieurs injections successives, des anticorps homologues pour ces deux virus. Lorsque ceux-ci ont disparu, l'inoculation d'un virus Coxsackie B_1 détermine chez plusieurs cobayes une élévation des anticorps de type B_5 accompagnée ou non de l'apparition d'anticorps homologues du type B_1. L'infection ultérieure avec le virus poliomyélitique type II cause une réapparition des anticorps de type I, mais non des anticorps Coxsackie B. Une nouvelle inoculation d'un virus E.C.H.O.$_9$ détermine chez certains animaux un rappel d'anticorps pour les types B_1 et B_5. Enfin l'infection terminale avec le virus Coxsackie A_9 renforce le titre des anticorps du groupe B chez un cobaye.

Ainsi, si une réponse anamnestique hétérotypique est souvent observée, elle n'est pas toujours accompagnée de l'apparition d'anticorps homologues décelables. Elle est plus fréquente entre les virus du même groupe qu'entre les entérovirus de groupes différents.

Une telle réponse anamnestique hétérotypique peut exister chez le singe (148). Par contre, elle n'a jamais été observée chez la souris (39). Elle a été fréquemment démontrée chez l'homme.

Les anticorps neutralisants ont également été étudiés au cours des expériences de Mietens et coll. Il n'existe jamais de rappel anamnestique hétérotypique des anticorps neutralisants chez le cobaye. Ceci est valable pour le singe.

En résumé, les virus Coxsackie B qui comportent actuellement 6 sérotypes différents, font apparaître chez l'homme et chez l'animal différents anticorps qui peuvent être mis en évidence par des réactions de neutralisation, de fixation du complément, de précipitation, d'inhibition de l'hémagglutination ou par les techniques d'immunofluorescence. Leur structure antigénique est encore mal connue. Récemment deux fractions antigéniques distinctes ont pu être séparées par centrifugation en gradient de densité : la première possède une activité précipitante et fixant le complément spécifique de « type ». La seconde est spécifique de groupe. Les types B_1, B_3 et B_5 possèdent une hémagglutinine. Des réactions croisées entre les différents sérotypes et avec les autres entérovirus ont été signalées. Elles peuvent être attribuées à une communauté antigénique ou à une réponse anamnestique.

CHAPITRE IV

LE POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL

Les virus Coxsackie ont été définis à l'origine par leur pouvoir pathogène expérimental pour le souriceau et le hamster nouveau-nés, mais non pour les animaux adultes de ces deux espèces (56). Cette définition conserve actuellement toute sa valeur. C'est en effet chez ces animaux que les lésions sont les plus constantes et les plus caractéristiques.

Cependant, en 1951, PAPPENHEIMER et coll. (200) décrivaient la réceptivité de la souris adulte à certaines souches de virus Coxsackie B. Puis d'autres animaux furent également reconnus sensibles à l'infection.

Enfin on a démontré qu'il était possible de vaincre la résistance naturelle de l'animal adulte en utilisant différents facteurs physiques et hormonaux, ce qui permettait d'entrevoir leur rôle dans les mécanismes physiopathogéniques de l'infection.

I. — Pouvoir pathogène expérimental chez le souriceau nouveau-né

Le souriceau nouveau-né reste l'animal de choix pour l'étude expérimentale des virus Coxsackie. Non seulement il permet l'isolement de la plupart des souches à partir de produits pathologiques humains, mais les lésions créées chez cet animal sont suffisamment caractéristiques pour permettre leur identification et leur classement dans les deux groupes A et B de DALLDORF.

La réceptivité des souriceaux pour les virus Coxsackie B décroît régulièrement avec l'âge. Toutefois les données concernant l'âge ultime de sensibilité varient légèrement suivant les auteurs. Dès 1948, DALLDORF et SICKLES (56) constatent qu'il n'est plus possible d'induire de paralysies chez les animaux âgés de plus de 12 jours. D'après BURNSTEIN (18) le sou-

riceau devient réfractaire au virus Coxsackie B_3, lorsqu'il atteint une semaine. Selon Grenier (94), la sensibilité disparaîtrait plus tôt, dès le 4e jour de la vie.

Tous ces auteurs se basent sur des signes cliniques évidents, mais il est probable qu'en se référant aux seules lésions histologiques, la période de sensibilité soit plus longue. En effet, Howes (118), étudiant la réceptivité de l'animal à l'égard de la souche Conn-5 a montré qu'en se basant non plus sur la seule mortalité, mais également sur la présence de lésions histologiques au niveau du pancréas, la diminution de la réceptivité avec l'âge se traduisait par une courbe plus complexe : la sensibilité à l'infection diminue d'abord rapidement, atteignant un minimum vers 8 jours, puis l'on note à nouveau un accroissement de cette sensibilité qui atteint un maximum vers l'âge de 3 à 4 semaines. Ensuite, elle décroît régulièrement au fur et à mesure que l'âge augmente.

Actuellement, le pouvoir pathogène de certaines souches de virus Coxsackie B pour la souris adulte ne fait plus aucun doute (95).

Le souriceau nouveau-né peut être infecté par différentes voies :

— *les voies intra-musculaire et intra-péritonéale* sont les plus couramment utilisées,

— *la voie intra-cérébrale* favorise les lésions du système nerveux central,

— l'inoculation par *voie sous-cutanée, intra-dermique* ou par *scarification cutanée* est également efficace. Levaditi et Henry-Eveno (163) ont montré que l'inoculation du virus Coxsackie B encéphalitogène par voie intra-dermique ou par scarification cutanée déterminait chez l'animal une infection mortelle, s'accompagnant d'une virémie et d'une localisation de l'agent infectieux au niveau de nombreux viscères (foie, rate, poumons, encéphale), mais non au niveau des reins,

— *la voie orale* a été expérimentée par Kaplan et Melnick (146) avec différentes souches de virus Coxsackie appartenant aux types B_1 et B_2. Cette voie est environ 10.000 fois moins sensible que la voie sous-cutanée et n'entraîne habituellement pas de troubles mortels. Elle provoque, cependant, l'apparition d'anticorps spécifiques,

— *la voie respiratoire* a été étudiée récemment par Suptel (247). L'inhalation de virus Coxsackie B_1, B_4 et A_7 détermine chez des souriceaux de 2 à 3 jours des manifestations cliniques typiques, aboutissant à 100 % de mortalité. Après s'être fixé sur le tissu

pulmonaire où il se multiplie intensément, le virus passe dans le sang et va se localiser dans différents tissus et viscères (foie, intestin, muscles, cerveau).

L'infection se traduit, chez l'animal, par une maladie clinique apparente et des lésions anatomiques de nombreux organes.

LA MALADIE ANIMALE

Les virus Coxsackie B déterminent habituellement chez le souriceau nouveau-né une maladie paralysante, rapidement mortelle.

Les premiers signes cliniques apparaissent après une période d'incubation généralement courte, de 2 à 10 jours, dont la durée varie selon la souche du virus, la dose infectante et la voie d'inoculation. Elle diminue régulièrement lors des passages en série.

Chez le souriceau âgé de 48 heures et inoculé par voie intrapéritonéale la maladie débute vers le 3e jour par une phase d'apathie où l'animal est inerte et réagit peu aux excitations extérieures. Il ne tête plus, le cri est affaibli. Le corps est parcouru de tremblements. Les spasmes et les accès convulsifs sont fréquents. L'ataxie est marquée. C'est alors qu'apparaissent les paralysies. De type spastique, elles débutent généralement au niveau du train postérieur, puis s'étendent rapidement vers l'extrémité céphalique. Elles prédominent souvent d'un côté obligeant l'animal à tourner sur lui-même. La respiration est parfois difficile, haletante et s'accompagne de cyanose. La mort survient vers le 2e ou 3e jour de la maladie et le cadavre du jeune souriceau est souvent dévoré par sa mère.

Parfois l'évolution est moins rapide. Les paralysies progressent plus lentement. On peut alors observer un amaigrissement progressif de l'animal, favorisé par la paralysie des muscles pharyngés qui l'empêche de téter et aboutissant à un état cachectique intense et mortel.

Si la dose infectieuse inoculée est faible ou si la souche utilisée est peu pathogène, les signes cliniques peuvent alors être beaucoup plus discrets, se limitant à quelques parésies ou à quelques accès convulsifs. Puis ces signes finissent par disparaître et l'animal guérit.

Une lésion cutanée, à distribution nettement métamérique, a été observée par Travassos et coll. (258) chez des souriceaux inoculés avec un virus Coxsackie de type B_1. Cette lésion est caractérisée par une alternance de zones d'atrophie des poils et de zones normales, conférant à l'animal un aspect zébré. L'examen histologique, tout en démontrant l'atteinte

de nombreux organes, n'a pas permis de mettre en évidence de lésions du système nerveux central qui puissent expliquer la distribution métamérique de cette lésion cutanée.

Avec les virus du groupe A, la maladie est différente. Après une période d'incubation également courte, on voit apparaître une paralysie de type flasque, généralement incomplète, pouvant atteindre un ou plusieurs membres. Elle ne s'accompagne jamais de signes encéphalitiques, ni méningés. La mort survient 24 à 48 heures après le début de la maladie.

Le virus peut être isolé dans le sang pendant les 7 premiers jours de l'infection (82 - 95). En faisant piquer des souriceaux inoculés avec un virus Coxsackie B_5 par des nymphes d'Ornithodorus erraticus, en broyant celles-ci immédiatement après et en inoculant le filtrat du broyat à des cellules Hep-2, Gevaudan et coll. (82) ont titré le virus présent dans le sang des souriceaux. Selon ces auteurs, la virémie précéderait de 12 heures l'apparition des symptômes et atteindrait un titre maximal (10^6 D.I.C.T. 50 par ml) vers la 48e heure après l'inoculation.

LES LÉSIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Elles intéressent de nombreux tissus, traduisant la généralisation de l'infection.

1°) *Lésions de l'axe cérébro-spinal.*

L'affinité neurotrope des virus Coxsackie B, mise en évidence pour la première fois par Dalldorf (49), se traduit habituellement chez le souriceau nouveau-né par une encéphalopathie sévère, rapidement mortelle, correspondant à des lésions destructrices intenses de l'axe cérébro-spinal.

Toutefois la fréquence et l'intensité des lésions peuvent varier non seulement suivant la souche virale utilisée, mais également suivant la voie d'inoculation et l'âge de l'animal :

Suivant la voie d'inoculation :

Les lésions sont plus fréquentes si l'inoculation est pratiquée par voie intracérébrale.

Par contre, selon Levaditi et coll. (163), l'inoculation du virus par voie intradermique ou par scarification cutanée, tout en provoquant une maladie mortelle, ne s'accompagne d'aucune modification histologique de

l'encéphale. Cependant elle confère à celui-ci la faculté d'engendrer des lésions neuroniques typiques chez des souriceaux sains inoculés par voie transcrânienne, prouvant ainsi la réalité de la fixation du virus au niveau du tissu nerveux.

La voie sous-cutanée produit deux fois moins de lésions que la voie intracérébrale (Grodums et coll., 97).

La voie intracérébelleuse a également été expérimentée avec succès. Les lésions sont cependant généralement moins sévères que celles obtenues par voie cérébrale (97).

Suivant l'âge de l'animal :

Grodums et Dempster (97) ont montré que la sensibilité du tissu nerveux diminuait progressivement depuis la naissance jusqu'au 15e jour de la vie. A partir de cette date, l'inoculation intracérébrale ne détermine plus de lésions, bien que le virus soit capable de persister dans cet organe 10 à 13 jours après l'inoculation.

L'intensité des lésions a été étudiée comparativement au *degré de myélinisation du tissu nerveux*, sans que l'on ait pu établir un rapport précis entre ces deux éléments. En effet, si l'atteinte du mésencéphale, du tronc cérébral et de la moelle semble décroître progressivement au fur et à mesure que la myélinisation progresse, par contre, la sensibilité du tissu cérébral et du cervelet semble indépendante de toute myélinisation (97).

Les lésions peuvent siéger à tous les étages de l'axe cérébro-spinal. Prédominantes au niveau du cerveau, elles peuvent également intéresser le tronc cérébral et la moelle épinière, dont elles épargnent habituellement les segments supérieurs. Le bulbe olfactif est toujours respecté. Des lésions dégénératives sévères des cellules ganglionnaires des cornes antérieures ont été décrites par Kibrick et Benirschke (410) chez des souriceaux de 1 jour inoculés simultanément par voie intra-cérébrale et sous-cutanée avec des virus Coxsackie B_4. Elles siégeaient à différents étages de la moelle et s'accompagnaient de neuronophagie. Les virus provenaient des organes (myocarde, foie) de deux enfants nouveau-nés ayant présenté une méningo-encéphalomyocardite mortelle. Des lésions comparables, mais moins intenses, avaient été décrites antérieurement par Gifford et Dalldorf (85) et Godman et coll. (91).

Grodums et Dempster (97 - 100) ont étudié la sensibilité des différentes parties du cerveau au cours de l'infection expérimentale par un virus Coxsackie B_3. Ils ont montré que la région la plus régulièrement atteinte était le lobe de l'hippocampe. Le cervelet, par contre, est toujours épargné. Des lésions peuvent également être observées, mais moins

fréquemment, au niveau des noyaux thalamiques latéraux, antérieurs et ventraux, au niveau des corps quadrijumeaux postérieurs, du ganglion géniculé moyen et du noyau mésencéphalique du V. Bien que l'intensité des lésions soit variable selon les régions, le virus présente le même titre dans le cerveau, le mésencéphale, le cervelet et la moelle.

Levaditi signale également des lésions prédominantes au niveau du cortex, du lobe de l'hippocampe et de la corne d'Ammon (162).

Aspect des lésions :

Macroscopiquement, l'encéphale est habituellement ramolli, et l'on peut observer parfois une véritable liquéfaction des hémisphères cérébraux (49 - 55).

Les lésions histologiques ont été initialement décrites par Dalldorf (49) et Melnick (182). Ces travaux mentionnent déjà non seulement la dégénérescence des neurones, mais aussi l'apparition d'un processus d'un type particulier caractérisé par la formation de cavités kystiques consécutives à la lyse des éléments nerveux, et auquel Levaditi a donné ultérieurement le nom de « coelogenèse ».

Cet auteur a fait une étude détaillée des lésions encéphalitiques observées chez des souriceaux de 3 jours inoculés par voie transcrânienne (161 - 162). Elles sont de trois ordres :

a) *des lésions méningées :* la méningite se déclare dès la 6e heure, puis s'intensifie pour atteindre un maximum vers la 36e heure. Les lésions histologiques, affectant les méninges corticales et les plexus choroïdes, consistent en une prolifération de lymphocytes, de polynucléaires et de volumineux macrophages.

b) *des lésions des neurones :* siégeant électivement au niveau du cortex, de l'hippocampe et de la corne d'Ammon, elles apparaissent dès la 12e heure et aboutissent à une neuronolyse. Le processus semble débuter au niveau du noyau par une margination de la chromatine, suivie d'une chromatolyse. Certaines cellules nerveuses présentent des modifications nucléaires comparables à celles observées lors de l'infection herpétique expérimentale du lapin : à l'intérieur du noyau volumineux, la basichromatine se condense sous forme de grains qui s'accolent à la membrane, tandis que l'oxychromatine la remplace au sein de la masse nucléaire. Les corps de Nissl subissent une fragmentation, puis disparaissent complètement. Les neurones s'hypertrophient et dégénèrent. Certains renferment dans leur cytoplasme des inclusions oxyphiles ainsi que de fines granula-

tions légèrement basophiles contenues dans des vacuoles. Le parenchyme est envahi par des polynucléaires en voie de caryolyse et intensément éosinophiles. Une périvascularite monocytaire est de règle. A un stade plus tardif, les neurones vont se fragmenter en débris difficilement identifiables. La neuronophagie est habituellement légère.

c) si l'animal survit quelques jours, on voit apparaître *des lésions de la substance blanche* intéressant la microglie et, à un degré moindre, l'oligodendroglie. L'atteinte débute habituellement par des lésions vasculaires se traduisant par des hémorragies plus ou moins diffuses et aboutissant à une nécrobiose de la substance blanche qui subit ultérieurement une dégénérescence oxyphile. Cette nécrobiose, jointe à la neuronolyse, aboutit à la formation de cavités plus ou moins volumineuses, apparaissant dès le 4e jour après l'inoculation et conférant au tissu cérébral un aspect spongieux. Une « réaction défensive et réparatrice » du tissu nerveux environnant est rapidement observée. Elle se traduit par l'apparition de néo-capillaires entourés de cellules microgliques, appelées cellules granulo-adipeuses, car elles renferment des inclusions basophiles et des dérivés lipidiques provenant de la désintégration myélinique de la substance blanche.

Ce processus de coelogenèse n'est pas spécifique des virus Coxsackie B. Il a pu être observé en particulier dans les encéphalites herpétiques du lapin. Des lésions comparables ont été observées au niveau de la moelle (199).

Grüner et coll. (103) ont décrit récemment des modifications histologiques semblables chez des souriceaux infectés avec un virus Coxsackie B_3. L'examen au microscope électronique a mis en évidence dans le cytoplasme et le noyau des cellules gliales, mais non dans les neurones, des corpuscules de 30 millimicrons de diamètre, dont la signification est inconnue.

2°) *Lésions des muscles striés.*

Elles sont fréquentes, mais non constantes au cours de l'infection Coxsackie B. Selon Grenier (94), elles seraient présentes seulement chez les 2/3 des animaux infectés et seraient plus fréquentes après inoculation intrapéritonéale.

Elles ne sont jamais massives, comme c'est le cas avec les virus Coxsackie du groupe A, mais se présentent habituellement sous forme de foyers de nécrose localisés, pouvant parfois passer inaperçus. L'atteinte

prédomine au niveau des muscles du squelette, mais elle peut également intéresser le psoas, les masseters, le diaphragme et la langue. Les muscles du tronc sont habituellement respectés (94).

Ces lésions ne diffèrent pas histologiquement de celles observées avec les virus Coxsackie A. Initialement décrites par DALLDORF comme une dégénérescence hyaline (de type Zenker) de la fibre musculaire accompagnée d'une réaction inflammatoire périfibrillaire à prédominance de monocytes et suivie d'une phase de régénération, elles ont été ultérieurement confirmées et précisées par différents auteurs (156 - 163).

Selon LEPINE (156), l'atteinte débute au niveau de la fibre musculaire sous forme d'une prolifération nucléaire, bientôt suivie d'un gonflement œdémateux segmentaire de la fibre. La striation disparaît progressivement en même temps qu'apparaissent des modifications des propriétés tinctoriales, se traduisant par une acidophilie marquée de la substance fondamentale. Les noyaux subissent une fragmentation pycnotique. Les segments dégénérés vont faire place à des masses hyalines, homogènes, fortement acidophiles à l'intérieur d'un sarcolemne qui reste habituellement intact. Parallèlement à l'atteinte de la fibre musculaire, se développe une réaction inflammatoire se traduisant par un œdème interstitiel et par l'apparition d'infiltrats cellulaires interfibrillaires où prédominent les éléments mononucléés. La dégénérescence hyaline des fibres serait présente dès le premier jour des paralysies. La réaction inflammatoire serait maxima le 2e jour, puis elle régresserait lentement (94). Ultérieurement, les fragments nécrotiques sont envahis par des phagocytes mononucléés qui vont les débarrasser de leur masse hyaline. Des figures de régénération vont apparaître sous la forme de fibres musculaires jeunes, étroites, fortement basophiles, dont le développement est guidé par le sarcolèmne restant. On n'observe jamais d'altération des terminaisons de la fibre nerveuse au niveau de la plaque motrice (58 - 156). Des lésions musculaires semblables ont été retrouvées chez des malades atteints de pleurodynie.

Le microscope électronique a permis de confirmer l'intensité des lésions, permettant de supposer l'action directe du virus sur l'élément musculaire. PORTOCALA (209) a décrit une hernie de l'actomyosine au niveau des stries Z avec disparition de la striation transversale et homogénéisation, aboutissant dans les stades plus avancés à la dégénérescence hyaline où les seules formations qui restent visibles sont les mitochondries. Les fibrilles de collagène sont abondantes et la phase précomateuse est marquée par l'apparition de myofibrilles de régénération.

L'atteinte anatomique et fonctionnelle des muscles striés se traduit par une diminution des électrolytes, potassium et sodium ainsi que du taux de la créatinine au niveau du muscle infecté, coïncidant avec une

augmentation parallèle de la créatinurie. Ces modifications métaboliques décrites initialement par Gifford et Dalldorf (84) ont été confirmées ultérieurement par Carcassi et Gioannini (21 - 22) et Gioannini (86 - 88).

L'infection s'accompagne également de modifications électrophorétiques des protéines musculaires. Portocala et Moscovici (210) ont étudié la courbe électrophorétique d'extraits musculaires provenant de souriceaux nouveau-nés bien portants ou inoculés par voie sous-cutanée avec des virus Coxsackie. Ils ont observé chez les premiers l'existence de 3 fractions protéiques différentes a, b et c, identifiables par leur vitesse de migration et dont les proportions ont été calculées. Les 3 fractions se retrouvent au niveau du muscle infecté, mais avec des pourcentages légèrement modifiés. La fraction a reste sensiblement constante (10 à 12 %) mais on observe une augmentation de la fraction b qui passe de 50 % à 61 % et au contraire une diminution de la fraction c qui, de 38 %, s'abaisse à 28 %.

3°) *Lésions du muscle cardiaque.*

Une myocardite nécrotique focale est fréquemment observée chez le souriceau nouveau-né lors de l'infection à virus Coxsackie B (91 - 96 - 100 - 186 - 199).

Cependant le cardiotropisme de ces virus, de même que leur affinité neurotrope, peut varier selon les souches et selon l'âge de l'animal inoculé. Par contre, la voie d'inoculation ne semble pas jouer de rôle important.

Pappenheimer et coll. (199) ont obtenu des lésions cardiaques fréquentes lors de l'infection par un virus Coxsackie B_4 (souche Powers) et beaucoup plus rares avec d'autres souches appartenant notamment au type B_1.

Melnick et Godman (186) ont observé une nécrose du myocarde seulement chez 3 des 35 souriceaux infectés par le virus Coxsackie B_1, souche Conn-5, à l'âge de 4 jours. Mais le pourcentage des animaux atteints était deux fois plus élevé lorsque l'inoculation avait lieu le jour même de la naissance.

Ultérieurement, Grodums et coll. (96 - 98 - 100) signalent une atteinte cardiaque chez des souriceaux non sevrés infectés avec des virus Coxsackie appartenant aux types B_1, B_2, B_4 et B_5. D'après ces auteurs, les Coxsackie B_1 et B_5 induisent des lésions plus sévères que les types B_2 et B_4. La réceptivité du muscle cardiaque pour les virus B_1 et B_2 décroît avec l'âge et ceux-ci ne sont plus pathogènes pour l'animal sevré. Par contre, l'âge ne semble pas avoir d'effet sur les souches B_4 et B_5 qui présentent le même degré de cardiotropisme chez les souriceaux à la mamelle et chez les souriceaux sevrés.

Les lésions peuvent siéger dans n'importe quelle partie du myocarde, mais les ventricules sont plus fréquemment atteints que les oreillettes. Le péricarde et l'endocarde sont toujours respectés. Histologiquement, elles sont identiques à celles observées au niveau des autres muscles striés : nécrose focale des fibres musculaires aboutissant à la dégénérescence hyaline et parfois à la calcification. Légère réaction inflammatoire interstitielle à mononucléaires ou à polynucléaires.

Des altérations du tracé électrocardiographique ont été signalées lors de l'infection à virus Coxsackie B_1 et B_5 (Marcolongo et coll. 177 - Carcassi et coll. 23 - 24). Elles consistent en un ralentissement du rythme cardiaque, un allongement de l'espace P R, parfois un bloc auriculo-ventriculaire complet ou de type périodes de Luciani-Wenkebach.

4°) *Lésions du tissu adipeux.*

Les virus Coxsackie B peuvent déterminer une dégénérescence nécrotique du tissu adipeux chez le souriceau nouveau-né.

Cette nécrose, relativement fréquente, peut atteindre tous les dépôts graisseux de l'organisme, mais elle prédomine nettement au niveau des coussinets adipeux interscapulaires et cervicaux, avec atteinte sélective de la graisse brune. Les articulations et le mésentère seraient plus rarement atteints (58). Des lésions du tissu graisseux péripancréatique ont également été signalées (55).

Le processus débute habituellement à la périphérie du lobule par une dégénérescence focale des cellules graisseuses. Celle-ci, accompagnée d'une réaction inflammatoire leucocytaire discrète, s'étend progressivement vers l'intérieur et aboutit à une nécrose franche, suivie, si l'animal survit suffisamment longtemps, d'une phase de cicatrisation et de régénération qui débute habituellement au niveau de la zone centrale dès le 4° jour après l'inoculation. Des dépôts de sels calciques sont fréquemment observés (55 - 95).

Ces lésions, particulièrement fréquentes chez le jeune souriceau, traduiraient selon Godman (91) une atteinte sélective de la graisse fœtale en voie de maturation. Mais certaines souches sont également capables de produire de telles lésions chez la souris adulte (95 - 100).

Considérée initialement comme spécifique des virus Coxsackie B (85), la nécrose des coussinets adipeux a été retrouvée ultérieurement au cours de la poliomyélite expérimentale (Schwartzman, cité par Dalldorf, 55).

5°) *Lésions pancréatiques.*

Des lésions nécrotiques du pancréas ont été décrites avec certaines souches de virus Coxsackie B (souche Conn-5, type B_1 - souche Powers, type B_4) lorsque les souriceaux sont infectés pendant les premiers jours de la vie. Après le 4e jour, ces lésions deviennent plus rares (Pappenheimer et coll., 199).

Seuls les acini pancréatiques sont lésés : les cellules subissent une dégénérescence acidophile, se nécrosent et desquament dans la lumière. Les îlots de Langerhans, par contre, ne sont pas touchés. Si l'animal survit, on voit apparaître un tissu adipeux de remplacement entourant les îlots endocriniens intacts. Ces lésions sont plus marquées chez la souris adulte.

6°) *Lésions du foie.*

L'atteinte hépatique est également inconstante. Elle a pu être observée lors de l'infection de très jeunes souriceaux de 1 à 2 jours avec certaines souches de virus Coxsackie B, en particulier la souche Conn-5 (91).

Une hépatite nécrosante aiguë, rapidement mortelle, se traduisant cliniquement chez le jeune animal par un ictère franc et des hémorragies gastro-intestinales a été signalée par Gifford et Dalldorf (85).

L'aspect histologique des lésions a été décrit par plusieurs auteurs (55 - 199). Elles consistent en l'apparition de foyers de dégénérescence des cellules parenchymateuses avec nécrose éosinophile du cytoplasme, pycnose et lyse du noyau. Elles s'accompagnent d'une infiltration inflammatoire discrète.

Pappenheimer et coll. (199) ont signalé la présence dans les sinusoïdes du foie de larges cellules réfringentes provenant probablement des cellules de Küpfer. De telles cellules n'ont pas été mentionnées par les autres auteurs.

7°) *Lésions des poumons.*

Des lésions d'emphysème pulmonaire ont été décrites avec certains virus Coxsackie B, en particulier par Pappenheimer et coll. (199) et Melnick et Godman (186).

8°) *Lésions rénales.*

Les virus Coxsackie B peuvent se multiplier au niveau des reins, mais les titres obtenus sont généralement faibles (112).

Les lésions observées, habituellement limitées à un simple gonflement des cellules tubulaires, ne sont vraisemblablement pas dues à l'action directe du virus sur le rein, mais seraient plutôt la conséquence de la destruction musculaire. Ceci explique leur plus grande fréquence lors des infections à virus Coxsackie A.

Pappenheimer et coll. (201) ont étudié l'élimination urinaire du virus Conn-5 inoculé par voie intrapéritonéale chez de jeunes souriceaux. L'urine, recueillie 48 heures après l'inoculation et injectée à des souriceaux sains, détermine chez ceux-ci une maladie rapidement mortelle avec, à l'autopsie, des lésions histologiques caractéristiques du foie et du pancréas. Ces lésions sont bien dues au virus et non à des substances toxiques non spécifiques contenues dans l'urine, comme le prouve leur neutralisation par l'immunsérum spécifique.

9° Pappenheimer (198) a décrit, chez des souriceaux infectés avec la souche Conn-5, la présence de *granulations intensément fuchsinophiles* (ou granulations F), entourées d'un halo pâle, grossièrement sphériques et mesurant approximativement 500 à 600 millimicrons de diamètre. Elles ont pu être mises en évidence dans le cytoplasme des cellules de tous les organes lésés, mais non au niveau des tissus normaux. Elles ont également été observées au niveau des lésions musculaires produites par une souche Coxsackie A (High Point), mais non au cours d'autres infections virales. Selon l'auteur, elles pourraient représenter, soit un aggrégat de particules virales, soit une dégénérescence granuleuse du cytoplasme. Leur signification n'a pas été établie. Des granulations semblables avaient été décrites antérieurement au niveau des cellules myocardiques par Gifford et Dalldorf (85).

Les lésions provoquées par les virus Coxsackie A sont moins variées et siègent exclusivement au niveau des muscles striés. L'atteinte prédomine au niveau des muscles du squelette et se traduit macroscopiquement par la présence de stries blanchâtres et opaques à la surface du tissu. Histologiquement semblables à celles décrites pour les virus Coxsackie B, les lésions sont généralement plus diffuses et plus intenses, pouvant aboutir à une véritable liquéfaction musculaire. Une atteinte du myocarde a été décrite (91), mais elle est exceptionnelle. Les autres organes, en particulier le système nerveux central, ne sont pas lésés.

Conclusion : Ainsi les virus Coxsackie B peuvent déterminer chez le souriceau nouveau-né des lésions variées, intéressant de nombreux tissus et organes : système nerveux central, muscles striés, myocarde, tissu adipeux,

pancréas, foie, rate, poumons. L'atteinte est particulièrement marquée au niveau de l'encéphale, mais le cervelet est toujours épargné. Les reins ne sont habituellement pas lésés.

Cependant l'intensité et la fréquence des lésions peuvent varier sous l'influence de différents facteurs, en particulier la nature du virus, la voie d'inoculation et l'âge de l'animal.

L'aspect histologique consiste habituellement en une dégénérescence éosinophile accompagnée d'une réaction cellulaire inflammatoire et aboutissant à une nécrose plus ou moins intense, pouvant être suivie d'une phase de régénération.

Le virus peut être isolé au niveau du sang et des différents tissus (y compris le cervelet et les reins) pendant les 7 premiers jours de l'infection (96 - 112 - 247). Les titres infectieux seraient maxima vers le 3e jour : très élevés au niveau du foie et de la rate (10^7), ils seraient 10 à 1.000 fois plus faibles au niveau du cerveau, des muscles et des reins (112).

II. — Pouvoir pathogène expérimental chez la souris adulte

Certaines souches de virus Coxsackie B peuvent déterminer chez la souris adulte, sans traitement préalable, des lésions histologiques au niveau de différents organes. L'atteinte prédomine habituellement au niveau du pancréas et peut se traduire par une véritable maladie apparente.

Cette action pathogène peut être intensifiée par l'utilisation de différents artifices que nous envisagerons ultérieurement.

A. — POUVOIR PATHOGENE CHEZ LA SOURIS NON TRAITÉE

LA MALADIE ANIMALE

Les souris infectées par voie intrapéritonéale avec la souche Conn-5 présentent toutes des lésions pancréatiques plus ou moins sévères. Mais parmi celles-ci, seules quelques-unes manifestent des signes évidents de maladie. Certaines, bien que présentant une nécrose pancréatique étendue, conservent une apparence sensiblement normale (Pappenheimer et coll. 200).

La maladie est caractérisée par un amaigrissement lent et progressif, souvent intense. La chute pondérale peut atteindre 32 % du poids initial de l'animal (200). Celui-ci est affaibli, chancelant. Le dos est voûté. La fonte musculaire peut déterminer des déformations en xyphose et en scoliose de la colonne vertébrale (250). Le poil est terne, ébouriffé. On

observe habituellement ni tremblements, ni spasmes, ni paralysies pouvant traduire une atteinte du système nerveux central (101 - 200). Parfois, après quelques semaines, l'animal semble reprendre du poids. Ceci est dû, en réalité, à une imprégnation œdémateuse des tissus en rapport avec un abaissement du taux des protéines sériques qui peuvent passer de 6 % à 4,6 % (200). L'œdème est particulièrement marqué au niveau de la région périorbitaire. Des épanchements peuvent apparaître dans les cavités péritonéale et pleurale. La faiblesse et la dénutrition s'intensifient, et l'animal sombre dans un état cachectique intense rapidement mortel.

Mais parfois l'amaigrissement et l'asthénie sont moins marqués et l'animal finit par guérir.

Surjus (250) signale une souche hautement pathogène, appartenant au type B_3, qui détermine une maladie paralytique mortelle chez 90 % des souris infectées.

Une phase de virémie a été décrite par Dineen (62). Après inoculation intrapéritonéale, le virus apparaît rapidement dans le sang. Sa concentration augmente progressivement et atteint un maximum de la 36e à la 72e heure après l'inoculation. Puis elle décroît, mais le virus ne disparaît complètement de la circulation qu'après le 8e jour. Selon Rabin et coll. (213), la phase de virémie serait plus courte : le virus atteindrait un titre de 10^3 U F P (unité formant plage) par ml. dès le 2e jour et disparaîtrait du sang après le 3e jour.

LES LÉSIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

1°) *le pancréas*

Le pancréas est l'organe le plus régulièrement et le plus sévèrement atteint au cours de l'infection expérimentale de la souris adulte par les virus Coxsackie B.

Selon Dineen (61 - 64), dès la 6e heure après l'inoculation intrapéritonéale, la concentration du virus dans le tissu pancréatique atteint 10^3 D L 50. A la 30e heure, elle s'élève à 10^7 D L 50, puis elle décroît régulièrement pour atteindre un taux minimum au bout de 10 à 15 jours.

Les lésions pancréatiques, généralement plus intenses que chez le souriceau nouveau-né, ont été décrites de façon détaillée par Pappenheimer, Kunz et Richardson (200) :

Lorsqu'il est examiné précocement, dans les 5 jours suivant l'inoculation, l'organe apparaît gonflé et œdématié. Ultérieurement, il devient atrophique ou est remplacé par une masse de tissu adipeux.

L'examen histologique révèle, dès le 3e jour après l'infection, une

nécrose massive qui peut atteindre la majeure partie du tissu pancréatique. Seul le pancréas exocrine est lésé. La structure des acini est à peine discernable. Les cellules présentent une dégénérescence éosinophile de leur cytoplasme et une pycnose de leur noyau. Les ilôts de Langerhans et les canaux sont épargnés. Une infiltration cellulaire inflammatoire, tout d'abord discrète et constituée essentiellement de monocytes, apparaît vers la 12e heure (64). Elle s'intensifie les jours suivants. Des polynucléaires envahissent les zones nécrosées et vont assurer une résorption rapide du tissu nécrotique. Des éosinophiles et des cellules géantes multinuclées peuvent également être observées. Il n'existe jamais de thromboses vasculaires ni d'hémorragies. A un stade ultérieur, la réaction inflammatoire a disparu. Les ilôts de Langerhans sont entourés de larges manchons cellulaires constitués par des éléments polygonaux et vacuolaires d'origine histiocytaire qui acquièrent les caractères de lipoblastes. Si le processus se poursuit, l'organe va être remplacé par une masse de tissu adipeux au sein de laquelle persistent quelques ilôts de Langerhans, seuls témoins de la nature originelle du tissu. Ceux-ci sont parfois entourés d'histiocytes contenant des grains de pigment brunâtre de nature « ceroid », qui se colore en rouge brillant par la méthode de Ziehl-Nielsen et présente une teinte légèrement jaunâtre par microscopie en fluorescence. Des signes de régénérescence du tissu exocrine ont été décrits.

Ces lésions ont été également observées au microscope électronique. Robertson (218) décrit l'apparition de vacuoles et d'inclusions de 5 millimicrons de large dans le cytoplasme des cellules acineuses pendant les 18 premières heures de l'infection.

La physiologie du pancréas lésé a été étudiée par Dineen (63 - 64). Au début de l'infection, l'organe maintient son activité fonctionnelle et à la 36e heure il produit même plus d'amylase que l'organe intact. Par contre, à la 48e heure, l'amylase atteint un taux plus élevé chez les souris témoins, non infectées. Il n'y a pas d'élévation secondaire du chlore salivaire comme dans la fibrose kystique du pancréas en pathologie humaine. Mais une diminution transitoire, qui semble en relation avec la présence d'une parotidite aiguë, a été signalée (274).

2°) *les glandes parotides*

Wilson et Cheatham (275) ont décrit récemment des lésions de nécrose au niveau des parotides chez des souris sevrées de 3 semaines, inoculées par voie intrapéritonéale avec la souche Conn-5. Elles sont habituellement moins sévères que les lésions pancréatiques.

Le virus se multiplie intensément dans la glande atteignant le 3e jour un titre maximal de $10^{7,5}$ D I C T 50 pour les cellules Hela, par mg de

tissu parotidien. Il est encore présent dans la parotide le 9e jour après l'infection. Il peut être isolé à partir de la salive.

Selon les animaux, la nécrose évolue plus ou moins rapidement. Elle peut rester localisée ou s'étendre à toute la glande. Habituellement, les premières modifications histologiques apparaissent vers le 2e ou le 4e jour après l'inoculation. Elles consistent en l'apparition d'un œdème interstitiel suivi d'une hypertrophie vitreuse des cellules acineuses. Le lendemain, des foyers de nécrose se constituent, caractérisés par des cellules au cytoplasme éosinophile, au noyau pycnotique puis lysé. Une petite infiltration cellulaire de lymphocytes, plasmocytes et éosinophiles peut déjà exister. Elle s'intensifie les jours suivants et des polynucléaires neutrophiles apparaissent. Du 6e au 8e jour, le tissu glandulaire et l'infiltrat inflammatoire ont pratiquement disparu et sont remplacés par une prolifération intense de fibroblastes. Puis les premiers signes de régénération apparaissent sous forme de larges cellules acineuses isolées, puis groupées. Vers le 9e jour, la structure lobulaire réapparaît et la glande récupère un aspect normal dans les deux semaines suivantes. Certaines parotides ne présentent aucune figure de régénération et du tissu graisseux de remplacement apparaît. Au début, l'épithélium des canaux excréteurs ne présente pas de modifications histologiques. Mais vers le 10e jour, au niveau des zones de fibrose, on peut observer une prolifération et une hyperplasie des cellules épithéliales, suivies d'une métaplasie squameuse qui apparaît du 11e au 14e jour. La coloration à l'hématoxyline - éosine ne permet pas de détecter de corps d'inclusion.

Pendant la période aiguë de la maladie, où il existe des lésions nécrotiques étendues, le taux des chlorures salivaires diminue pour revenir à la normale vers le 14e ou 21e jour, lors de la régénération glandulaire (274). Les autres glandes salivaires ne sont pas lésées.

3°) *Le tissu adipeux*

Des lésions du tissu adipeux ont été observées avec la souche Conn-5 par Pappenheimer et coll. (200). Elles diffèrent de celles produites par la même souche chez le souriceau nouveau-né tant en ce qui concerne leur localisation que leur histopathologie.

Elles sont limitées strictement au tissu graisseux de la cavité abdominale, et apparaissent précocement sous forme de plages de nécrose blanchâtres, plus ou moins volumineuses, au niveau de la graisse périrénale, mésentérique et pelvienne.

L'examen histologique révèle également une dégénérescence acidophile des cellules adipeuses accompagnée d'une réaction cellulaire inflammatoire. Mais l'imprégnation calcique de la région nécrosée, fréquente

chez le souriceau, n'est jamais observée chez la souris adulte et l'évolution se fait vers une prolifération fibroblastique.

Selon Pappenheimer, les lésions du tissu graisseux embryonnaire chez le souriceau nouveau-né résulteraient de l'action directe du virus sur ce tissu. Par contre, la nécrose de la graisse abdominale chez la souris serait due à la libération d'enzymes protéolytiques et lipolytiques consécutive à la nécrose massive du pancréas. Toutefois, on a démontré que le virus Coxsackie B_1 se multipliait intensément dans le tissu adipeux abdominal (181).

Ultérieurement, des lésions de la graisse brune des coussinets interscapulaires ont été décrites chez des souris adultes au cours de l'infection expérimentale avec des virus de types B_1, B_3, B_4 et B_5 (95 - 99). La sensibilité de la graisse brune au virus Coxsackie B_3, particulièrement marquée pendant la 3e et la 4e semaine de la vie, diminue à la fin de la 4e semaine. Elle persiste encore chez les souris âgées, mais la nécrose périphérique serait alors moins marquée, sinon absente.

4°) *Le cœur*

Selon Grodums et Dempster (95 - 96 - 98), les virus Coxsackie B_4 et B_5 peuvent produire des lésions cardiaques chez la souris sevrée. L'atteinte est habituellement peu marquée et se limite à quelques petits foyers de nécrose hémorragique. Les types B_1 et B_2 qui provoquent des lésions cardiaques modérées chez le souriceau nouveau-né, ne sont habituellement pas pathogènes pour le cœur de souris adulte. Par contre, une myocardite sévère est régulièrement produite avec la souche Nancy appartenant au type antigénique B_3 (96). La nécrose est particulièrement marquée entre l'âge de 12 jours et de 56 jours. Les souris plus âgées, bien qu'atteintes dans 90 % des cas, présentent des lésions beaucoup plus légères.

Histologiquement, les lésions myocardiques sont identiques à celles décrites chez le souriceau nouveau-né. Le péricarde peut être atteint, par contre l'endocarde est toujours épargné.

Ces lésions sont plus ou moins sévères suivant les races de souris. Les autres facteurs, tels que la voie d'inoculation, le sexe de l'animal, la nature et la concentration de l'inoculum agissent peu sur l'évolution. Pour expliquer la sévérité des lésions, les auteurs invoquent soit l'affinité cardiaque particulièrement marquée de la souche Nancy, soit la sensibilité intense du myocarde des souris étudiées, en rapport avec l'existence d'un facteur intrinsèque particulier et inconnu.

Rabin et coll. (213) ont étudié récemment de façon détaillée l'action de la même souche Nancy sur le myocarde de souris âgées de 12 à 20

jours, inoculées par voie intrapéritonéale. L'atteinte du muscle cardiaque s'est traduite macroscopiquement par l'apparition, dès le 7e jour, de plages de nécrose blanchâtres à la surface des ventricules. Les premières modifications histologiques purent être décelées dès le 3e jour et consistaient en un gonflement et une fragmentation des mitochondries, un élargissement des espaces périnucléaires, et une hypertrophie du réticulum sarcoplasmique. Ces lésions, maximales au 7e jour, furent suivies d'une phase de cicatrisation et d'imprégnation calcique. L'étude au microscope électronique a permis de mettre en évidence des corps denses, irréguliers, de nature inconnue, au niveau des mitochondries. De plus, on pouvait observer dans le cytoplasme des myocytes des amas de particules sphériques, uniformes, de 20 millimicrons de diamètre, dont certaines présentaient un nucléoïde central dense. Elles étaient concentrées autour du noyau. Aucun groupement ordonné, ni aucune formation cristalline n'étaient visibles. L'identification de ces particules ne put être affirmée par les auteurs, par suite de l'impossibilité de les différencier des particules ribosomales cellulaires. Mais leur présence en grande quantité au niveau des foyers d'infection et leur distribution, qui correspondait à la localisation de l'antigène viral décelé par la méthode des anticorps fluorescents, plaident en faveur de leur nature virale. Les altérations de la structure fine du noyau et la présence de granules de type ribosomal au niveau du nucléoplasme permet d'entrevoir le rôle possible du noyau dans la replication virale.

5°) *Les muscles striés*

Ils ne présentent habituellement pas de lésions, même au niveau du point d'inoculation intra-musculaire (200). Des foyers de nécrose ont cependant été décrits chez des souris inoculées avec la souche Nancy, type B_3 (213).

6°) *Le système nerveux central*

Il n'est généralement pas atteint, mais le virus peut être décelé dans le cerveau pendant 10 à 13 jours après l'inoculation (97). Récemment Surjus (250) a signalé une souche neurotropique appartenant au type antigénique B_3 et capable de déterminer une maladie paralysante mortelle chez la souris adulte.

7°) *Le foie*

Dans les stades précoces de l'infection par la souche Conn-5, le foie est souvent le siège d'une infiltration graisseuse plus ou moins étendue, géné-

ralement limitée à la périphérie du lobule et entourant une zone de dégénérescence hyaline centrale. Les sinusoïdes peuvent renfermer de nombreuses cellules contenant des phospholipides. Ces lésions sont habituellement transitoires et l'organe récupère rapidement un aspect normal (150 - 200). Des lésions de nécrose hépatique ont également été observées avec la souche Nancy (213).

8°) *La rate*

A la phase aiguë de la maladie, la rate est gonflée et congestionnée. Les cellules lymphoïdes des follicules de Malpighi présentent une dégénérescence fragmentaire. La pulpe est hémorragique. Plus tard, la rate devient atrophique et l'on observe un abondant dépôt d'hémosidérine au niveau de la pulpe. Lorsque l'évolution se fait vers la chronicité, on peut voir apparaître le pigment « ceroïd » déjà décrit au niveau des lésions pancréatiques chroniques (200).

Ce pigment peut également être observé au niveau des follicules lymphoïdes de l'*intestin* (200).

9°) *Le thymus*

Il présente souvent une atrophie marquée (200).

10°) *Les organes génitaux*

Ils ne sont pas atteints. La spermatogénèse et l'ovulation sont normales (200).

11°) *Les reins.*

Ils ne présentent pas de lésions, mais le virus est régulièrement excrété dans l'urine (201).

En résumé, certaines souches de virus Coxsackie B appartenant en particulier aux types B_1 (souche Conn-5) et B_3 (souche Nancy) sont pathogènes pour la souris adulte. L'atteinte prédomine habituellement au niveau du pancréas, aboutissant à une insuffisance glandulaire chronique qui se traduit, chez l'animal, par un amaigrissement et une cachexie plus ou moins marqués, mortels ou non. Des lésions ont également été décrites au niveau des parotides, du tissu adipeux, du myocarde, du foie et de la rate. Elles sont souvent peu intenses et suivies d'une phase de régénération. Le système nerveux central et les muscles striés sont habituellement épargnés, bien que le virus soit capable de s'y multiplier (97).

B. — ACTION DE CERTAINS AGENTS PHYSIQUES ET HORMONAUX. INFLUENCE DE LA GRAVIDITÉ SUR LA MALADIE EXPÉRIMENTALE DE LA SOURIS ADULTE

Pour créer des lésions chez un animal naturellement résistant, il existe deux possibilités :

— soit intensifier le tropisme naturel des souches pour certains organes : le tropisme pancréatique de la souche Conn-5 peut être exalté par des passages en série de pancréas à pancréas (53),

— soit sensibiliser l'animal par différents artifices que nous allons décrire :

1°) LES FACTEURS PHYSIQUES

L'action des radiations et du froid a été particulièrement étudiée.

a) *les radiations*

En 1953, Cheever (30) montre que l'exposition de souris adultes aux rayons X pendant 24 à 120 heures avant l'inoculation intrapéritonéale de la souche Powers (type B_4) n'entraîne pas d'aggravation de la maladie. Par contre, on observe une augmentation du titre du virus au niveau de différents organes, cette augmentation étant proportionnelle au temps d'exposition aux radiations. Le virus persiste plus longtemps chez les souris irradiées que chez les souris témoins.

Plus récemment, Cajal et coll. (20) ont constaté que des souris blanches, soumises à l'action des rayons γ et β émis par l'I_{121} et le P_{32}, devenaient réceptives au virus Coxsackie A_2 et faisaient fréquemment une maladie paralysante mortelle.

Selon les auteurs, les radiations pourraient agir, soit en diminuant les moyens de résistance de l'organisme (notamment en bloquant la production d'anticorps, ou en déterminant une chute du taux de la properdine sérique), soit en entraînant certaines modifications du métabolisme cellulaire favorisant la multiplication du virus au niveau des tissus.

b) *l'action du froid* sur l'infection expérimentale de la souris adulte a également été étudiée. Nous signalerons en particulier les travaux de Boring et coll. (13 - 14) et de Walker et Boring (264).

La résistance naturelle de la souris adulte à la souche Conn-5 est dimi-

nuée de façon marquée si l'animal est exposé au froid (4°C) lors de l'infection. Ceci se traduit de deux façons :

— d'une part, alors qu'à la température ordinaire (25°C) l'infection est limitée au pancréas et n'est que rarement mortelle, à 4°C elle est presque toujours fatale, la mort survenant en 3 à 6 jours avec des lésions non seulement du pancréas, mais également du foie, du cœur, de l'intestin, des poumons,

— d'autre part, si les titres du virus mesurés au 2e jour de l'inoculation dans les différents tissus, sont semblables à 25°C et à 4°C, les mêmes mesures réalisées le 4e jour montrent une différence nette : alors qu'à 25°C les titres ont diminué dans tous les tissus, sauf dans le pancréas, à 4°C non seulement ils restent élevés, mais ils ont même augmenté, excepté dans le sang et dans le pancréas.

Pour déterminer une infection mortelle, l'exposition au froid doit être continue pendant plusieurs jours et commencer rapidement après l'inoculation.

Le mécanisme par lequel le froid sensibilise l'animal adulte n'est pas encore connu.

On a tout d'abord pensé qu'il agissait *en stimulant la sécrétion des surrénales*, puisque le traitement cortisonique produit le même effet. Mais les expériences de Walker et Boring (264) ne sont pas en faveur de cette hypothèse. En effet :

— l'administration d'A.C.T.H. à l'animal, à dose suffisante pour entraîner une chute de poids, ne diminue pas la résistance à l'infection. Toutefois, cet A.C.T.H. semble bien stimuler le cortex surrénalien puisque l'on voit apparaître une éosinopénie et une lymphopénie,

— une adaptation préalable de l'animal au froid ne peut annuler cet effet,

— Enfin, l'exposition à la chaleur (36°C), qui détermine également une hypersécrétion de la corticosurrénale, a une action totalement opposée, et inhibe toute multiplication virale au niveau des tissus.

Il semble donc difficile d'invoquer une stimulation de la surrénale.

D'autres hypothèses ont été émises. Sous l'influence du froid :

— les processus de défense de l'organisme (anticorps spécifiques et inhibiteurs non spécifiques) seraient inhibés, alors qu'ils seraient au contraire intensifiés par la chaleur. Toutefois, même si l'exposition à 4°C n'est réalisée que 4 jours après l'inoculation, bien que le taux des anticorps sériques soit déjà conséquent, l'évolution est toujours mortelle :

— les processus de réparation des lésions seraient diminués. Or, la température semble intervenir surtout sur la multiplication du virus dans les tissus et affecte peu l'extension des lésions ;

— la diminution de la température corporelle de la souris pourrait modifier la sensibilité des cellules à l'égard du virus ;

— des troubles du métabolisme cellulaire pourraient apparaître, peut-être par intervention de la thyroïde. Dès 1956, Boring et Zu Rhein (14) avaient suggéré que le froid pourrait agir en stimulant l'activité thyroïdienne. Dans ce but, Boring et Ungar, en 1962 (13), après avoir créé chez des souris un état d'hyperthyroïdie par des injections répétées de thyroxine, ont testé leur sensibilité à l'égard de la souche Conn-5. Ils ont observé que non seulement le traitement par la thyroxine n'augmentait pas la sensibilité des souris pour le virus, mais que les lésions produites étaient plus rares et moins sévères que celles obtenues chez des souris non traitées. Il semble donc peu probable que l'augmentation de la réceptivité de la souris sous l'influence du froid soit due à une augmentation de l'activité thyroïdienne.

2°) LES FACTEURS HORMONAUX

a) *la cortisone*

En 1951, Pappenheimer et coll. (200), par inoculation de la souche Conn-5 à la souris adulte, réussirent à produire chez cet animal, sans traitement préalable, une nécrose du pancréas généralement non mortelle.

La même année, Kilbourne et Horsfall (141) démontrent que lors de la même infection, l'administration préalable par voie sous-cutanée de 2,5 à 7,5 mg d'acétate de cortisone à l'animal produit une maladie toujours fatale, caractérisée par une large diffusion du virus dans tout l'organisme.

Ces résultats ont été ultérieurement confirmés par plusieurs auteurs avec différentes souches de virus Coxsackie B. Nous citerons en particulier les expériences de Levaditi et coll. (166), Sulkin et coll. (245), Boring et Angevine (11), Kilbourne et coll. (142 - 143) avec un virus Coxsackie B_3, Behbehani et coll. (7) avec un type B_2 et Surjus (250 - 251) avec un type B_3.

L'aggravation due à la cortisone est particulièrement marquée si celle-ci est administrée avant ou en même temps que le virus. Elle est beaucoup plus faible si elle est donnée quelques jours après l'inoculation

(250). L'infection se traduit habituellement par une longue phase de virémie et une localisation du virus au niveau de très nombreux organes (pancréas, foie, rate, reins, poumons, muscles striés, myocarde, système nerveux central).

Les lésions cardiaques sont particulièrement marquées. Elles ont été étudiées par KILBOURNE et coll. (142 - 143) : l'administration de cortisone à la souris adulte infectée par un virus Coxsackie B_3 détermine une nécrose massive du myocarde qui apparaît environ 5 jours après le début de l'infection. Histologiquement, les lésions sont identiques à celles décrites chez le souriceau nouveau-né.

— Toutefois, en l'absence de cortisone, le virus est capable de se multiplier aussi intensément au niveau du myocarde, mais il n'induit alors qu'une nécrose minime, localisée, non visible macroscopiquement.

— De plus, l'administration de cortisone seule produit aussi des modifications histologiques du muscle cardiaque, mais celles-ci sont peu intenses et différentes de celles créées par le virus : on observe en particulier des lésions de périvascularite et de valvulite.

— Enfin, un virus Coxsackie B_1 a également été étudié. Dans les mêmes conditions, il détermine des lésions nettement moins sévères, sans doute en raison de son faible cardiotropisme.

Selon les auteurs, la nécrose massive observée en présence de cortisone, ne serait donc pas due à une augmentation de la concentration virale dans le cœur, mais plutôt à une action synergique associant la toxicité de la cortisone pour le muscle cardiaque au cardiotropisme intense du virus Coxsackie B_3. Des résultats comparables ont été obtenus par RABIN et coll. (213).

La cortisone semble agir surtout en prolongeant la virémie, en permettant un envahissement généralisé de tout l'organisme et en intensifiant l'atteinte cardiaque. L'action pathogène sur les autres organes est, par contre, peu influencée.

b) *l'hydrocortisone* sensibilise également la souris à l'action du virus et permet un envahissement généralisé de tout l'organisme. Cette sensibilisation serait même plus rapide et plus marquée qu'avec la cortisone (250).

Mécanisme d'action de la cortisone et de ses dérivés :

Il est bien connu que la cortisone entrave l'élaboration des anticorps, mais qu'elle n'a, par contre, aucune action sur les anticorps déjà formés et circulants (262).

Ainsi, selon Bernheim et coll. (9), la cortisone pourrait agir chez la souris adulte, non en intensifiant le pouvoir pathogène du virus, mais en retardant la formation des anticorps. Ceci permettrait d'expliquer la gravité de l'infection lorsqu'elle est administrée avant ou en même temps que le virus. Par contre, si son administration est tardive, les anticorps déjà formés protégeront la souris dont l'atteinte sera moins sévère.

c) *l'A.C.T.H.*, bien que stimulant les sécrétions cortico-surrénaliennes, modifie peu la réceptivité de la souris. Walker et Boring (264) ont étudié son action sur des animaux adultes infectés avec la souche Conn-5 : la seule manifestation a été une diminution transitoire du poids de l'animal de l'ordre de 12 %.

d) *la testostérone et l'hormone somatotrope* ne modifient pas la maladie expérimentale de la souris adulte. Par contre, l'hormone somatotrope diminue la sensibilité du souriceau nouveau-né aux virus Coxsackie B_2 et B_3 et réduit le taux de mortalité (7).

e) enfin, l'action *des hormones sexuelles femelles*, progestérone et folliculine, a été récemment étudiée par l'Ecole Strasbourgeoise (250 - 356).

La folliculine sensibilise la souris adulte à l'action du virus Coxsackie B_3. Les résultats obtenus sont comparables à ceux donnés par la cortisone (généralisation septicémique de l'infection et lésions myocardiques), mais avec une intensité moindre.

La progestérone produit une sensibilisation particulièrement intense et toujours mortelle.

Le rôle important de ces hormones au cours de la gestation pourrait expliquer la grande réceptivité de la souris gravide.

3°) LES EFFETS DE LA GRAVIDITÉ

Dès 1954, Dalldorf et Gifford (54) constatent que les souris deviennent de plus en plus sensibles au virus Coxsackie B_1 au fur et à mesure que la gestation avance. Cette réceptivité au virus disparaît aussitôt après la naissance des petits.

Ceci a été confirmé récemment par les travaux de l'Ecole Strasbourgeoise (249 - 250 - 251 - 356). La sensibilisation est d'autant plus marquée que l'inoculation est faite à un stade avancé de la gestation. Surjus (250)

a décrit un syndrome clinique caractéristique, souvent mortel (parésies, perte de la sensibilité, amaigrissement, asthénie, chute des poils), apparaissant soit immédiatement après la mise bas, soit quelques jours après. Le virus a pu être isolé au niveau de nombreux organes : cerveau, poumon, foie, rate, rein. Des lésions de myocardite interstitielle et des formations fibreuses ont été observées au niveau du muscle cardiaque. Des troubles de la fécondation, lorsque l'inoculation est réalisée au début de la gestation, et des avortements, lorsqu'elle est réalisée plus tard (après le premier tiers de la gestation) ont également été décrits (250). Certaines souris, cependant, donnent naissance à des souriceaux et ceux-ci sont porteurs de virus.

Quels sont les éléments responsables de la sensibilisation de la souris gestante ?

On ne peut invoquer une exaltation du pouvoir pathogène du virus. Il semble plutôt que la généralisation de l'infection soit en rapport avec les variations de l'équilibre hormonal qui se produisent lors de la gestation, par suite de la sécrétion particulièrement abondante des hormones cortisoniques et des hormones sexuelles femelles. Celles-ci, qui donnent expérimentalement des résultats tout à fait comparables à ceux observés chez la souris gestante, peuvent être retenues comme des agents possibles de la sensibilisation.

Cependant, leur mécanisme d'action n'est pas encore connu et semble être particulièrement complexe chez l'animal gravide. Les expériences réalisées par FRUHLING et coll. (356) chez de tels animaux préalablement hyperimmunisés par le virus Coxsackie B_3, montrent que la souris immune inoculée avec le virus pendant le troisième tiers de la gestation peut présenter des avortements et une généralisation septicémique. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez la souris non immunisée, sinon que la mortalité est de 20 % dans le cas d'immunisation préalable contre 75 % chez l'animal non immunisé. Les anticorps neutralisants qui sont présents en fin de gestation à un taux élevé (puisqu'ils neutralisent 10^6 à 10^7 D I C T 50) ne protègent donc pas la souris immune. Selon FRUHLING, il existerait chez celle-ci un état de tolérance immunologique par blocage d'anticorps, ce blocage pouvant être réalisé par les hormones stéroïdes présentes en grande quantité.

Ainsi, différents facteurs physiques et hormonaux de même que la gravidité, sont capables d'augmenter la sensibilité de la souris adulte pour les virus Coxsackie B. Les hormones cortico-surrénales semblent jouer un rôle important dans l'acquisition de cette réceptivité. Elles ont

également été invoquées pour expliquer la sensibilité élective de l'animal nouveau-né.

Explication de la sensibilité du souriceau nouveau-né.

Dès 1955, Dalldorf (51) établit un rapport entre le haut degré de sensibilité du souriceau nouveau-né et le taux particulièrement élevé des facteurs corticoïdes chez cet animal. Ce taux diminue progressivement pendant les premières semaines de la vie, en même temps que la réceptivité disparaît. Celle-ci réapparaît sous l'influence du traitement cortisonique.

Behbehani et coll. (7), après avoir démontré l'action aggravante de la cortisone chez l'animal adulte, ont essayé d'expliquer la concentration élevée de ces hormones chez le souriceau. Trois sources sont possibles :

— d'une part, l'embryon présente une hypertrophie marquée des glandes surrénales qui récupèrent une taille normale peu après la naissance ;

— d'autre part, les hormones présentes en grande quantité dans le sang de la mère pendant la gestation, peuvent gagner l'embryon par voie transplacentaire ;

— enfin, après la naissance, l'animal peut encore acquérir les facteurs corticoïdes contenus dans le lait de la nourrice.

Ainsi s'explique la forte imprégnation hormonale du souriceau nouveau-né, qui pourrait être à l'origine de sa haute réceptivité.

Cette propriété a fait l'objet de nombreux autres commentaires. Parmi les facteurs invoqués, nous citerons :

— la formation insuffisante ou retardée des anticorps en rapport avec l'immaturité de l'animal. Or, chez la souris adulte, les anticorps neutralisants ne peuvent être détectés que 4 jours après l'infection, date à laquelle le souriceau infecté a déjà succombé (112),

— l'existence d'une activité cellulaire particulièrement marquée chez le jeune animal, qui favoriserait l'action pathogène du virus. Selon Levaditi et coll. (166), la réceptivité du tissu cérébral des souriceaux serait l'expression d'un processus cellulaire en rapport avec l'intense activité des cellules en voie de division caryocinétique,

— l'absence, chez le souriceau nouveau-né, des barrières tissulaires

qui s'opposeraient, chez l'animal adulte, à l'invasion du virus (175). Elles n'ont jamais été démontrées,

— la présence de récepteurs spécifiques.

L'importance de tels récepteurs dans le déterminisme de la sensibilité des cellules en culture aux entérovirus a été citée par plusieurs auteurs (43 - 46 - 114 - 115).

Récemment, KUNIN (149) a émis l'hypothèse que la sensibilité particulière des tissus du jeune souriceau serait également en rapport avec la présence de récepteurs cellulaires spécifiques. Par contre, la résistance de la souris adulte s'expliquerait par l'absence de tels récepteurs au niveau des tissus matures.

Il a démontré que seuls les tissus lésés in vivo étaient capables d'adsorber le virus in vitro. Il existe un rapport entre l'intensité de l'adsorption in vitro et la virulence in vivo.

Une substance considérée comme le support de l'activité réceptrice pour les virus Coxsackie B_1 et B_3 a été isolée dans le tissu cérébral de souriceau nouveau-né. Cette substance est thermolabile et sédimentable. Détruite par les solvants des graisses (éther, chloroforme), elle résiste à l'action des enzymes protéolytiques (trypsine-pepsine). Elle est donc différente des récepteurs protéiniques des cellules en culture. Elle peut être conservée quelques semaines à — 70°C et par lyophilisation. Elle n'est présente que chez certaines espèces animales et dans certains tissus. On a pu la mettre en évidence dans le cerveau de souriceau, de rat, de singe rhésus, mais non dans le cerveau de lapin et de cobaye. Elle présente également une spécificité relative à l'égard des virus : elle adsorbe les virus Coxsackie B_1 et B_3, mais non le virus poliomyélitique type I.

Il n'y a aucune correspondance entre ces récepteurs et ceux des cellules en culture. Les préparations de tissu amniotique humain n'adsorbent pas le virus Coxsackie B_1. Par contre, celui-ci se multiplie facilement sur cultures de cellules amniotiques humaines.

La cortisone n'augmente pas la capacité d'adsorption du virus Coxsackie B_1 par le tissu cérébral de souriceau. Elle n'intervient donc pas sur les rapports virus-cellules hôtes.

L'adsorption du virus Coxsackie B_1 par le tissu cérébral de souris diminue progressivement avec l'âge. Pour fixer la même quantité de virus, il faut trois fois plus de tissu chez la souris de trois semaines et 38 fois plus chez la souris de 1 an. La substance réceptrice contenue dans le cerveau adulte ne représente que les 1/8 de la quantité présente chez le souriceau.

Il existe donc un rapport certain entre la sensibilité des tissus et leur richesse en récepteurs spécifiques. Cette richesse diminuant progressivement

lors de la maturation des tissus explique la faible réceptivité de l'animal adulte.

— *Le rôle possible de l'Interféron* a été étudié tout récemment par Heineberg, Gold et Robbins (112).

Ceux-ci ont mis en évidence dans les tissus de souris adultes infectées avec un virus Coxsackie B_1 une substance résistante à bas pH, non spécifique et présente uniquement chez les animaux inoculés. Cette substance, très voisine de l'Interféron d'Isaacs, semble également capable d'exercer une action inhibitrice sur la multiplication virale.

En déterminant la teneur en Interféron de tissus provenant de souris de différents âges et en l'étudiant comparativement au titre du virus présent dans ces tissus, ils ont pu démontrer que la production d'Interféron augmente progressivement avec l'âge, tandis que la concentration du virus diminue. Chez les souriceaux de 1 à 2 jours, aucune trace d'Interféron ne peut être détectée dans les différents organes étudiés (cerveau, muscles, reins, rate) alors que le virus y est abondant. Par contre, chez les souris de 6 semaines, l'interféron est présent à taux élevé dans tous les organes dès le 2e jour après l'inoculation, mais les titres infectieux sont faibles. Chez les souris de 2 semaines, l'Interféron est élaboré plus lentement et à une concentration plus basse que chez les souris de 6 semaines.

Il existe une relation directe entre la teneur en interféron des tissus d'une part, et l'intensité de la multiplication virale et de la maladie clinique d'autre part.

Ainsi, si l'animal âgé répond à l'infection par une production importante d'Interféron, il n'en est pas de même pour le souriceau nouveau-né. L'incapacité de l'animal immature à élaborer cette substance pourrait expliquer, selon les auteurs, sa grande sensibilité à l'infection.

Actuellement, la question reste posée. Que la haute réceptivité du souriceau nouveau-né soit due à la présence d'hormones corticoïdes ou de récepteurs cellulaires spécifiques, à l'incapacité d'élaborer des anticorps ou de l'Interféron, le problème n'est pas encore résolu. Mais il est probable que ces différents facteurs soient capables d'agir simultanément.

III. — Pouvoir pathogène expérimental chez les autres animaux

Bien que le souriceau représente l'animal de choix pour l'étude des virus Coxsackie, d'autres animaux domestiques et sauvages ont également été utilisés :

Le Hamster nouveau-né :

Le virus découvert par DALLDORF en 1948 (56) s'est montré pathogène non seulement pour le souriceau, mais également pour le hamster nouveau-né, avec production de lésions musculaires identiques chez les deux animaux.

Récemment, BURNSTEIN (18) a étudié comparativement la sensibilité des hamsters et souriceaux nouveau-nés au virus Coxsackie B_3. La période de sensibilité du hamster est plus longue que celle du souriceau. Elle s'étend de la naissance jusqu'au 12e jour de la vie, alors que le souriceau devient habituellement réfractaire au bout de 8 jours. La maladie clinique présente le même aspect chez les deux animaux, mais la période d'incubation est plus courte chez le hamster : les premiers signes apparaissent 24 heures après l'infection, alors que le souriceau, dans les mêmes conditions, conserve une apparence normale jusqu'au 3e ou 4e jour. Les lésions anatomo-pathologiques sont identiques, mais les titres infectieux des tissus sont généralement plus élevés chez le hamster. Les hamsters nouveau-nés sont donc plus sensibles que les souriceaux à certaines souches de virus Coxsackie B. Ils peuvent être utilisés avec succès pour l'isolement de ces virus.

La grande sensibilité du *mérion* aux virus Coxsackie a été décrite par LEPINE et coll. (158). Cette sensibilité persiste plusieurs semaines, mais la maladie évolue plus lentement chez l'animal âgé. Suivant la voie d'inoculation on peut observer des lésions musculaires ou neurotropes identiques à celles du souriceau nouveau-né.

Les rats et cobayes nouveau-nés font habituellement une infection non mortelle, caractérisée essentiellement par des lésions musculaires (8).

Les virus Coxsackie B produisent chez *le jeune furet* une nécrose du pancréas et la lyse des cellules nerveuses du cortex cérébral (261).

Ils ne produisent habituellement pas de maladie apparente chez *le lapin nouveau-né*. Ils sont cependant capables de se multiplier au niveau des muscles striés en y provoquant des lésions dégénératives plus ou moins sévères et histologiquement semblables à celles décrites chez le souriceau. Par contre, aucune lésion n'est détectée au niveau du système nerveux central, de la graisse brune et des viscères (BELL et HADLOW - 8).

KING (144 - 145) a montré que l'injection par voie veineuse au lapin

de cellules rénales de singe infectées avec un virus Coxsackie B_1, déterminait chez celui-ci une élévation de température caractéristique, qui apparaît après une période de latence de 45 minutes et présente deux clochers, l'un au bout de 90 minutes et l'autre vers la 4e heure. Cette manifestation est bien relative à l'infection puisqu'elle n'apparaît pas à la suite de l'inoculation de cellules rénales de singes non infectées. L'activité pyrogène n'est pas inhibée par l'immunsérum spécifique, et elle ne disparaît pas après chauffage des extraits cellulaires à 70°C pendant 30 minutes. L'élévation de température n'est donc pas due à la multiplication du virus, mais plutôt à l'existence d'un facteur thermostable dont on ignore encore s'il fait partie de la particule virale ou s'il est synthétisé par la cellule sous l'effet de l'infection. Cette élévation de la température s'accompagne habituellement d'une modification du taux des cellules sanguines : on observe vers la 2e heure une augmentation des leucocytes qui atteignent un chiffre maximum à 4 heures, ainsi qu'une diminution des lymphocytes avec un minimum également vers 4 heures. Les auteurs pensent que le pyrogène viral pourrait agir comme le pyrogène bactérien par action sur les leucocytes qui libéreraient un pyrogène endogène agissant directement sur les centres thermo-régulateurs.

Dempster et coll. (60) ont montré récemment que les virus Coxsackie B_3 pouvaient être pathogènes pour certains animaux hibernants tels que certaines espèces *d'écureuils et de chauve-souris.*

Chez les écureuils hibernants, adultes et nouveau-nés, on observe une multiplication intense du virus au niveau de la graisse brune, du cœur et des muscles striés, accompagnée de lésions identiques à celles observées chez le souriceau, mais elles apparaissent plus tardivement, 4 à 5 semaines après l'inoculation. Par contre, le cerveau semble relativement résistant, bien que la région du bulbe olfactif soit fréquemment atteinte. Chez l'animal non hibernant, la graisse brune réagit par une simple réponse inflammatoire, qui disparaît au bout de 10 jours.

Les chauve-souris réagissent différemment à l'infection. Elles ne présentent habituellement pas de lésions cardiaques et les lésions de la graisse brune sont rares et différentes de celles observées chez le souriceau. Par contre, plusieurs de ces animaux ont présenté une méningoencéphalite sévère en période d'hibernation.

Les premiers essais pour créer une infection expérimentale chez *le singe rhésus échouèrent*, ce qui permit d'écarter tout rapprochement avec le virus poliomyélitique Lansing adapté à la souris (56).

En 1949 cependant, Melnick, Shaw et Curnen (190) réussirent à réaliser chez deux chimpanzés infectés par voie orale, une maladie inapparente avec présence du virus dans l'intestin et dans la gorge et apparition d'anticorps spécifiques dans le sang.

L'année suivante, Melnick et Ledinko (187) infectent par voie buccale des Macacca Irus et Cynomolgus. Les animaux ne réagissent que par une simple élévation thermique, mais ils sont porteurs de virus et possèdent des anticorps spécifiques. Par contre, les singes Rhésus et Cercopithèques se montrent résistants.

Actuellement, la maladie expérimentale de certaines espèces de singes est un fait acquis. Si l'infection peut se traduire uniquement par une simple apparition d'anticorps, une phase de virémie et des lésions anatomiques de différents organes peuvent également être observées.

Steigman (236) décrit des lésions de type poliomyélitique dans le cerveau, mais non au niveau de la moelle d'un singe rhésus inoculé avec un virus Coxsackie B_2.

Récemment, Lou et coll. (167) ont pu infecter des singes Cynomolgus avec plusieurs virus Coxsackie appartenant aux types B_4 et B_5 en utilisant différentes voies d'inoculation (parentérale, veineuse ou orale). Certains animaux ont présenté des lésions caractéristiques du système nerveux central, se traduisant par des paralysies habituellement modérées et transitoires, mais parfois mortelles. Des lésions ont également été décrites au niveau du péricarde et du myocarde. Siègeant électivement au niveau du ventricule gauche et dans la paroi interventriculaire, elles sont généralement peu sévères. Une atteinte pancréatique a été observée. Le virus a pu être isolé dans le sang, le cœur et dans le liquide céphalo-rachidien, même en l'absence de lésions du système nerveux central.

Le chien et *le chat* nouveau-nés sont réfractaires à l'infection.

CONCLUSION

Les virus Coxsackie B produisent chez le souriceau nouveau-né une maladie et des lésions caractéristiques qui permettent de les différencier des virus Coxsackie A et des autres entérovirus. Certaines souches, appartenant aux types antigéniques B_1 et B_3, sont également pathogènes pour la souris adulte dont la réceptivité peut être intensifiée par différents facteurs physiques et hormonaux. Des lésions, plus ou moins sévères, sont également obtenues chez d'autres animaux.

L'étude du pouvoir pathogène expérimental pour l'animal est particulièrement intéressante dans la mesure où elle permet de prévoir, d'identifier et d'expliquer l'action pathogène de ces virus chez l'homme.

Le polytropisme qu'ils manifestent chez le souriceau nouveau-né laisse présager, en pathologie humaine, une étude clinique particulièrement riche avec des lésions variées atteignant de préférence le système musculaire, le cœur, le système nerveux, plus diffuses et plus graves à la période néo-natale.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CLINIQUE DES INFECTIONS A VIRUS COXSACKIE B

INTRODUCTION

CHAPITRE I

LA MALADIE DE BORNHOLM

I. — Historique

II. — Tableau clinique

Observations personnelles

CHAPITRE II

L'ATTEINTE CARDIAQUE AU COURS DE L'INFECTION A VIRUS COXSACKIE B

I. — La myocardite aiguë

A. — La myocardite aiguë du nouveau-né

Tableau clinique

Etude anatomo-pathologique

B. — La myocardite aiguë de l'enfant et de l'adulte

Tableau clinique

Observations personnelles

II. — La myoendocardite chronique fibroélastique du nouveau-né et du nourrisson

III. — Péricardites aiguës bénignes

CHAPITRE III

LES INFECTIONS DU SYSTEME NERVEUX

I. — Méningites abactériennes

Observations personnelles

Tableau clinique

II. — Encéphalites et méningo-encéphalites

A. — Chez le nouveau-né et le nourrisson

B. — Chez l'enfant plus âgé et l'adulte

III. — Paralysies pseudo-poliomyélitiques

IV. — Syndrome de Guillain et Barré

Observation personnelle

CHAPITRE IV

AUTRES MANIFESTATIONS DE L'INFECTION A VIRUS COXSACKIE B

I. — Atteintes cutanées et muqueuses

1. — Exanthèmes

2. — Affections vésiculeuses de l'oropharynx

II. — Atteintes viscérales

Affections respiratoires

Orchite

Atteinte hépatique

Splénomégalie

Adénopathies

Pancréatites - néphrites

Gastroentérites

III. — Maladie mineure

IV. — Infection chez la femme enceinte - Anomalies du fœtus.

INTRODUCTION

Aux virus Coxsackie B a été initialement attribuée une affection musculaire spécifique, la maladie de Bornholm. Mais la multiplicité des complications qui peuvent émailler le cours de cette maladie fit rapidement suspecter un pouvoir pathogène plus étendu. Des syndromes cliniques variés et souvent non caractéristiques leur ont été progressivement rattachés, et l'on sait maintenant que cette virose peut atteindre, parfois simultanément, les muscles striés, le cœur, le système nerveux, les voies respiratoires...

L'un des traits les plus marquants de l'infection humaine à virus Coxsackie B est la sensibilité particulière de l'enfant nouveau-né. Chez celui-ci la maladie détermine fréquemment une atteinte viscérale généralisée, d'évolution souvent mortelle. Par contre, chez l'enfant plus âgé et l'adulte, les manifestations sont habituellement bénignes. Nous retrouvons donc en pathologie humaine les principales caractéristiques de la maladie expérimentale de la souris. Et ce qui est vrai pour les virus Coxsackie B l'est également pour d'autres virus tels que celui de l'herpès, de la maladie des inclusions cytomégaliques, dont le pouvoir pathogène est infiniment plus grave et plus diffus à la période néonatale.

Nous décrirons successivement :

— la Maladie de Bornholm,
— l'atteinte cardiaque,
— les infections du système nerveux,
— et quelques manifestations plus rares, mais variées.

Nous joindrons à cette étude certaines observations personnelles, nous limitant à celles dont l'étiologie nous paraît confirmée par les données cliniques, virologiques et sérologiques. Nous mentionnerons également d'autres cas dont le diagnostic étiologique, quoique probable, n'a pu être établi avec certitude en raison d'une étude biologique incomplète.

CHAPITRE I

LA MALADIE DE BORNHOLM

I. — Historique

Le cadre clinique de cette maladie a été individualisé en 1932 sous le nom de « myosite aiguë épidémique » par Ejnar Sylvest (510) à la suite d'une épidémie ayant sévi en 1930 dans l'île danoise de Bornholm. Mais, bien avant cette date, la maladie avait été décrite sous différentes appellations dans de nombreux pays. Dès 1856 et 1865, Finsen (351) observe en Islande plusieurs cas de « pleurodynie ». En 1872, en Norvège, Daae (323) et Homann (386) décrivent des « rhumatismes musculaires de poitrine contagieux ». Des « grippes du diable » sont rapportées en 1888 par Dabney (324) aux Etats-Unis. Bacher (283) en 1897 et Payne et Armstrong (461) en 1923 parlent de « spasmes transitoires du diaphragme ». Enfin à Paris, en 1921, Reilly décrit des « névrites intercostales » qui semblent se rattacher à la pleurodynie.

A partir de 1932, les observations se multiplient dans de nombreux pays. L'épidémie née dans l'île de Bornholm se propage non seulement à tout le Danemark (511) où 10.000 cas furent enregistrés de 1930 à 1934, mais aussi à la Suède (394). Au cours des années suivantes la maladie est signalée en Belgique (325 - 473 - 521), en Angleterre (387), en Suisse (375), en Amérique (350 - 380). Plusieurs cas sont même observés à Suez en 1943 (488) et dans le sud de l'Inde en 1947 (379).

Mais l'étiologie de cette maladie, dont le caractère épidémique révèle une origine infectieuse, est encore inconnue. Cooper et coll. (314) en 1935 isolent chez un malade un streptocoque hémolytique, mais qui ne montre aucun pouvoir pathogène semblable chez l'animal. Devant la fréquence des méningites lymphocytaires qui accompagnent les myalgies, De Rudder

(478) et Lindberg (431) s'orientent dès 1937 vers une étiologie virale et suggèrent que l'agent causal doit être proche de celui de la poliomyélite.

En 1949, Curnen, Shaw et Melnick (322) isolent un virus qui fut identifié ultérieurement comme un Coxsackie B_1 à partir des selles d'un jeune garçon atteint de pleurodynie. Des myalgies caractéristiques sont également observées chez trois travailleurs de laboratoire, contaminés accidentellement en manipulant ce virus (491). L'étude sérologique met en évidence des anticorps spécifiques chez tous ces malades. Ainsi, pour la première fois, un rapprochement est fait entre la maladie et le virus isolé en 1947 par Dalldorf et Sickles (56).

Une première confirmation est apportée par Weller et coll. (266) qui réussirent à isoler un virus Coxsackie B_1 à partir de produits de lavages de gorge, conservés à la glacière, de malades atteints de pleurodynie 2 ans auparavant lors d'une épidémie qui règna dans le Massachussets.

Findlay et Howard (349) observent en Angleterre une maladie de Bornholm typique à la suite d'une auto-contamination accidentelle et chez un sujet volontairement infecté par un virus Coxsackie B. De plus, ils isolent le virus chez plusieurs malades.

Mais la preuve formelle du rôle étiologique des virus Coxsackie fut apportée en France par Lepine, Desse et Sautter (159). En effet, lors d'une épidémie qui sévit en Bretagne de 1951 à 1952, Desse (335) fut amené à pratiquer plusieurs biopsies musculaires. Leur étude histologique permit de mettre en évidence des lésions tout à fait comparables à celles produites par les virus chez le souriceau. De plus, l'inoculation du tissu biopsié dans le péritoine de l'animal détermina chez celui-ci une maladie expérimentale typique, permettant d'affirmer le caractère infectieux du tissu musculaire.

Depuis, de nombreuses publications ont permis de rattacher définitivement ce syndrome aux virus Coxsackie B. En France, nous citerons les observations de Lepine (156 - 421), Desse (335), Fournier (353), Martin et Sureau (445), Peltier et coll. (462), les thèses de Welte (538), Hubert (390). La maladie a été associée aux sérotypes B_1 (266 - 333 - 372), B_2 (549). B_3 (338 - 360 - 405 - 534), B_4 (452 - 509 - 524), B_5 (284 - 317 - 480). Elle peut se présenter sous forme sporadique, mais le plus souvent elle se manifeste par des épidémies plus ou moins importantes, souvent limitées à une famille ou une petite collectivité, mais présentant parfois une extension beaucoup plus vaste. Elle atteint les adultes, surtout les adultes jeunes, mais aussi les enfants.

II. — Le tableau clinique

La maladie de Bornholm est avant tout une affection musculaire, caractérisée par de violentes myalgies avec contracture. La localisation variable des douleurs ainsi que la pluralité des symptômes qui peuvent leur être associés rendent parfois le diagnostic difficile, surtout lorsque la maladie se présente sous forme sporadique. Nous dresserons ici un tableau général et synthétique de l'affection.

INCUBATION

Les signes cliniques apparaissent après une période d'incubation de 2 à 5 jours (468 - 534), parfois plus longue. Chez un volontaire infecté par voie nasale avec un virus Coxsackie B, les premiers symptômes sont apparus 46 heures après l'inoculation (349).

DÉBUT

La maladie débute souvent de façon brutale par l'apparition de violentes douleurs musculaires accompagnées d'une élévation thermique (38° - 39°). Mais une courte phase prodromique avec état fébrile, malaise, frissons, céphalées, signes digestifs ou autres symptômes généraux, parfois suivis d'une période asymptomatique de quelques jours peut précéder l'apparition des myalgies.

A LA PÉRIODE D'ÉTAT

Le tableau clinique est dominé par *les douleurs*. Celles-ci sont caractéristiques. Généralement intenses et lancinantes, elles peuvent arracher des cris au malade. Elles ont été comparées à des crampes, des morsures, un broiement... Elles présentent habituellement des exacerbations paroxystiques séparées par des périodes d'accalmie. Elles peuvent intéresser tous les muscles du squelette, mais siègent avec prédilection au niveau des muscles du thorax et de l'abdomen.

La forme thoracique est la plus fréquente chez l'adulte. Le malade est brusquement immobilisé par une douleur intense, en coup de poignard, accompagnée d'une sensation d'étreinte thoracique et de gêne respiratoire. Elle peut simuler le point de côté de la pleurésie, d'où l'appellation de « pleurodynie », mais aussi la douleur angoreuse. Uni ou bilatérale, elle siège surtout à la partie basse du thorax. Elle est intensifiée

par la toux, la parole, le rire et les mouvements respiratoires et peut entraîner un état dyspnéique accompagné de cyanose et d'anxiété.

La forme abdominale est surtout rencontrée chez l'enfant. Les myalgies sont habituellement localisées à la partie supérieure de l'abdomen, plus souvent à droite qu'à gauche, mais parfois dans la région périombilicale. Pendant la crise douloureuse, le ventre est dur, tendu et, lorsque la douleur est localisée dans la partie inférieure droite de l'abdomen, elle peut simuler une appendicite aiguë. Des douleurs abdominales et thoraciques peuvent coexister ou se succéder (534).

Des myalgies, à type de crampes, ont été fréquemment décrites au niveau des membres. Elles peuvent également être localisées au niveau de la ceinture scapulohumérale, provoquant des positions antalgiques simulant des parésies. Chez un sujet volontairement infecté par FINDLAY et coll. (349), des douleurs sont apparues au niveau de la pointe de l'omoplate droite, irradiant vers les espaces intercostaux. Elles ont également été signalées au niveau de la région précordiale, des lombes. Leur localisation au niveau des muscles de la nuque et des gouttières vertébrales peut simuler un torticolis ou un syndrome méningé. D'après MARYSSAEL (447), les trapèzes seraient très fréquemment atteints, entraînant une douleur à l'élongation de la tête. Ce « signe du trapèze » peut durer 10 à 12 mois.

La contracture des muscles est parfois visible à l'œil nu. A la palpation, ils sont douloureux, durs et tuméfiés. Des nodules de la taille d'une lentille à celle d'une noix peuvent être perçus au sein de la masse musculaire et dans le tissu cellulaire sous-cutané (474 - 511 - 521).

Des fibrillations musculaires et des myoclonies ont été décrites (335). Une hyperesthésie cutanée est souvent signalée au niveau de la région douloureuse, ainsi que des paresthésies (534). Douleur et contracture peuvent parfois abolir transitoirement les réflexes ostéo-tendineux, mais ceux-ci sont généralement conservés. Des parésies de courte durée ont été signalées au cours de certaines observations (514).

La fièvre est presque constante, mais elle est généralement discrète (38° - 38°5) et disparaît rapidement en 2 à 3 jours. Parfois un second clocher apparaît vers le 5e ou 7e jour, donnant une courbe biphasique assez caractéristique. Chez l'enfant, elle est souvent plus élevée et peut s'accompagner de convulsions. Des frissons, des bouffées de chaleur ont été rapportés (447).

Malgré les douleurs et la fièvre, *l'état général* est habituellement conservé. Mais le malade est parfois fatigué, anorexique, anxieux.

Les céphalées frontales, souvent intenses, sont fréquentes et précoces. *Les troubles digestifs* (nausées, vomissements, diarrhée) sont plus marqués chez le jeune enfant. *L'examen O.R.L.* (oto-rhino-laryngologique) peut révéler une angine, une rhinopharyngite (534) ou une otite (394). *Un exanthème* a parfois été observé (372).

Les examens courants de laboratoire ne sont pas d'un grand secours. La V.S. (vitesse de sédimentation) est normale ou légèrement accélérée. l'hémogramme peut mettre en évidence une légère leucopénie avec granulopénie (447), mais ne présente pas le plus souvent d'altérations notables. Les urines sont normales. A notre connaissance, aucune recherche sur la créatinurie n'a été réalisée, bien que celle-ci soit importante chez l'animal. Le L.C.R. (liquide céphalo-rachidien) ne présente pas d'anomalie en l'absence de complications méningées.

Les examens électriques (électromyogramme et étude de la chronaxie) confirment l'intégrité des neurones moteurs et ne montrent qu'une légère hypoexcitabilité des muscles (335 - 447).

Des biopsies musculaires ont été réalisées par Lepine, Desse et Sautter (159) chez deux malades à divers stades de l'infection. A la phase aiguë, les lésions histologiques sont identiques à celles décrites chez le souriceau : dégénérescence hyaline focale des fibres avec disparition de la striation entraînant une dislocation des faisceaux musculaires ; infiltration cellulaire à prédominance mononucléée dans les septa et entre les fibres. A ce stade, l'inoculation du prélèvement au souriceau provoque des lésions caractéristiques, démontrant ainsi le pouvoir infectieux du tissu. Par contre, au stade chronique de la maladie, même si des lésions musculaires persistent, le virus a disparu et la transmission au souriceau n'est plus possible.

ÉVOLUTION

Elle est toujours favorable. La température et les crises douloureuses persistent 2 à 5 jours, puis disparaissent. Mais souvent après une période plus ou moins longue d'apparente guérison (4 à 15 jours), on observe une réapparition de la fièvre et des douleurs localisées soit au niveau du même groupe musculaire, soit dans un autre territoire. Cette rechute peut être unique ou se répéter (534). Elle serait favorisée par l'administration de corticoïdes (372). La convalescence est alors souvent longue. Asthénie, fatigue, nervosité peuvent persister plusieurs semaines (447). Des séquelles à type d'algies résiduelles ou d'amyotrophie ont été signalées

par certains auteurs. DESSE (335) décrit une forme clinique caractérisée par de violentes myalgies au niveau du territoire du crural et s'accompagnant d'une amyotrophie précoce et importante qui peut persister 8 mois. Une luxation double de hanches par myosite rétractile due au virus Coxsackie a été signalée par FREUDENBERG (cité par DESSE).

FORMES CLINIQUES

Mais le tableau est parfois moins caractéristique. Il peut se limiter à quelques contractures accompagnées d'une légère fébricule ou à un simple torticolis passager. Ces formes frustes de la maladies sont difficiles à diagnostiquer en l'absence de données épidémiologiques.

Des *syndromes surajoutés* peuvent modifier le tableau décrit :

— *la méningite lymphocytaire* est fréquente, surtout chez les enfants, mais non constante (534). LINDBERG (431) la signale dès 1936. SYLVEST (511) la décrit comme une complication et GSELL (376), en 1949, propose le nom de « méningitis myalgica ». Elle survient habituellement à la fin de la première semaine, mais elle peut apparaître également dès le début des myalgies. Elle peut être cliniquement latente ou se traduire par un syndrome méningé avec céphalées, raideur de nuque, parfois vomissements. L'examen du L.C.R. montre une pleiocytose de 10 à 2.000 cellules par mm^3, à formule mixte au début, puis à prédominance lymphocytaire. L'albuminorachie est parfois légèrement élevée. Les taux du glucose et des chlorures sont normaux.

— *l'atteinte encéphalitique*, plus rare, est généralement peu sévère. Elle peut se traduire par une somnolence (539), des vertiges ou une « impression de vivre dans un nuage » (447 - 534), des convulsions chez l'enfant (389). Des paralysies transitoires avec aréflexie ont été décrites (447) ainsi que des syndromes plus rares : méningo-encéphalite avec choréo-athétose (446), phénomènes extrapyramidaux avec hallucinose pédonculaire (303), chorée fibrillaire de Morvan (335).

— *l'orchite* est une complication connue depuis longtemps (511 - 394 - 454). Comme l'orchite ourlienne, elle est l'apanage presque exclusif des adultes. Au cours d'une épidémie de 262 cas, WARIN (534) l'a rencontrée chez 10 % des adultes. Elle apparaît 10 à 15 jours après le début des myalgies, souvent à l'occasion d'une rechute. Son évolution est habituellement bénigne et s'accompagne rarement d'atrophie testiculaire.

— *une atteinte cardiaque* peut exister : myocardite (372 - 509), mais surtout péricardite aiguë bénigne (284 - 288 - 290 - 373 - 440).

— *ainsi que des manifestations respiratoires :* pneumonies, bronchopneumonies (292 - 336 - 394), pleurésies (292 - 493 - 534 - 511).

— *des otites, pancréatites, hépatites* et *néphrites*, ont été plus rarement signalées au cours d'attaques de pleurodynie (394).

Toutes ces complications sont habituellement peu sévères et guérissent sans séquelles.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Nous rapportons ici plusieurs observations qui nous paraissent se rattacher cliniquement à une maladie de Bornholm. Dans les deux premières, l'infection Coxsackie B a été prouvée par l'isolement du virus et les tests sérologiques. Dans les autres cas, bien que le syndrome douloureux ait été assez caractéristique, le diagnostic n'a pu être affirmé par suite de l'absence d'isolement du virus ou d'étude sérologique.

OBSERVATION n° 1 :

G... Jean-Claude, 24 ans, est admis le 13 juin 1963 au Service des Maladies Infectieuses.

Sa maladie a débuté 2 jours auparavant par l'apparition brutale de fièvre (39°), de céphalées, de maux de gorge et de violentes douleurs localisées à la partie basse de la colonne vertébrale. Il existait de plus un légère raideur de nuque, mais pas de vomissements.

A l'entrée, les douleurs lombaires ont disparu, mais le malade reste anxieux, agité. L'examen de la gorge révèle une angine rouge. Il persiste une légère raideur méningée, mais la formule cytochimique du L. C. R. est normale. Le pouls est irrégulier et l'auscultation met en évidence une arythmie extra-systolique. A l'E. C. G. (électrocardiogramme) : rythme sinusal entrecoupé de fréquentes extrasystoles ventriculaires pouvant suggérer une atteinte myocardique fruste. Pas d'anomalies de la conduction auriculo-ventriculaire, ni troubles de la repolarisation. La T. A. (tension artérielle) est à 11/6,5.

La numération-formule, l'urée sanguine, la V. S., sont normales, ainsi que l'examen des urines. La glycémie est dosée à 1,90 g le 14.6.63, mais elle est normale 3 jours plus tard, et il n'y a pas de glycosurie.

L'examen bactériologique de la gorge révèle la présence de streptocoques hémolytiques. La réaction de Paul et Bunnel est négative.

Sous l'influence du traitement antibiotique, l'évolution est rapidement favorable. La fièvre cède en 3 jours. L'arythmie disparaît et le sujet sort guéri le 19 juin.

Virologie :

Un *virus Coxsackie* B_4 a été isolé sur cultures cellulaires (cellules rénales de Cynocéphalus babuin et cellules KB) à partir du prélèvement de gorge du 15.6.63. Le

titre des anticorps neutralisants spécifiques est inférieur à 1/4 dans le sérum du 14.6.63, mais il est de 1/32 dans celui du 28.6.63.

Les réactions de fixation du complément sont négatives pour les adénovirus et la grippe. Présence d'anticorps neutralisants poliomyélitiques de type I, II et III.

OBSERVATION n° 2 :

H... Stanislas, 35 ans, est admis le 12 juin 1964, pour fièvre, myalgies et asthénie à la Clinique Médicale D.

Au mois de janvier, il a présenté un tableau clinique caractérisé par une asthénie importante, des céphalées, des douleurs paravertébrales et scapulaires et des myalgies diffuses. La fièvre n'a pas dépassé 38°. Une radiographie des colonnes cervicale, dorsale et lombaire s'est révélée normale, ainsi que le cliché pulmonaire. La V.S. était à 5/13. L'hémogramme était sans particularité, sauf une inversion de la formule blanche (G. B. 6.000/mm3 avec 28 % de polynucléaires neutrophiles et 58 % de lymphocytes). Un sérodiagnostic de Wright, pratiqué le 30.1.64 s'est montré négatif.

Les symptômes ont disparu progressivement en 5 à 6 jours, mais une rechute avec un tableau clinique comparable s'est produite 15 jours plus tard, et s'est répétée par la suite, coupée de périodes d'accalmie de durée variable. Devant l'asthénie persistante, d'autres examens ont été pratiqués en vue de déceler une éventuelle insuffisance surrénalienne (dosage des 17 ceto et 17 hydroxystéroïdes urinaires, glycémie), mais sans résultats. Un sérodiagnostic des Rickettsioses réalisé le 11 avril est négatif.

Le médecin traitant, suspectant une maladie de Bornholm, demande une réaction de fixation du complément pour les virus Coxsackie B. Celle-ci se révèle positive au taux de 1/64 le 30.4.64.

Au mois de juin, la fièvre, les myalgies et l'asthénie étant réapparues, le malade est hospitalisé pour bilan. Tous les examens pratiqués (numération-formule, bilan humoral, protéine C réactive, antistreptolysines, urée, glycémie, bilirubine, transaminases oxalo-acétiques, culot, débit-minute, constante de Grandpierre, stéroïdes urinaires, E. C.G.) sont normaux. La V. S. est à 25/48. L'électrophorèse montre une accentuation des α globulines. La réaction de Bordet-Wasserman et le séro-diagnostic des Rickettsioses sont négatifs. Un *virus Coxsackie* B_2 a été isolé à partir des matières fécales.

OBSERVATION n° 3 :

A l'occasion d'une petite épidémie de méningite lymphocytaire à Coxsackie B_5, survenue dans une pouponnière, une élève-puéricultrice de 23 ans, *G... Monique*, est hospitalisée le 29 septembre 1962 à la Clinique Médicale A, pour syndrome méningé.

Depuis 9 jours elle présente un état fébrile avec asthénie, anorexie et se plaint de douleurs intenses, surtout localisées à la jonction thoraco-abdominale, mais atteignant aussi d'autres groupes musculaires. Les douleurs thoraciques sont intensifiées par la respiration et s'accompagnent, pendant 2 jours, de frottements pleuraux, mais la radiographie pulmonaire reste absolument normale. La méningite lymphocytaire est confirmée par la ponction lombaire du 29.9.62 : 200 cellules à prédominance de lymphocytes, albuminorachie légèrement élevée.

Virologie :

Aucun virus ne fut isolé dans les selles, la gorge et le L. C. R. de la malade, mais des *anticorps neutralisants anti-Coxsackie* B_5 furent décelés dans les sérums du 6.10.62 et du 25.10.62 au taux de 1/32.

Les réactions de fixation du complément étaient négatives pour la grippe, les adénovirus, l'ornithose-psittacose et les oreillons. Présence d'anticorps poliomyélitiques de type I, II, III.

Les faits biologiques sont donc insuffisants pour affirmer le diagnostic, mais le contexte épidémiologique et l'aspect clinique apportent une forte présomption.

OBSERVATION n° 4 :

O... Pierre, 11 ans, est admis le 5.10.59 à la Clinique Médicale Infantile.

Il se plaint depuis 4 jours de céphalées frontales et de violentes douleurs abdominales localisées au niveau de la fosse iliaque droite et intensifiées par la marche et les mouvements respiratoires.

A l'entrée, la température est à 38°, mais les douleurs ont disparu. L'examen clinique est négatif. L'hémogramme et l'examen des urines sont normaux.

Virologie :

Un *virus Coxsackie* B_1 fut isolé à partir des selles du 12.10.59, mais non à partir du prélèvement de gorge.

OBSERVATION n° 5 :

L'enfant *Q... Martine*, 10 ans, est hospitalisée le 29.7.62 à la Clinique Médicale Infantile.

Sa maladie a débuté le même jour, au lever, par l'apparition de douleurs abdominales intenses dans la région sous-ombilicale accompagnées de fièvre à 39°. Des rachialgies et des douleurs musculaires diffuses spontanées et provoquées apparaissent quelques heures plus tard. L'enfant se plaint également de céphalées et de maux de gorge. Une légère diarrhée est notée. Il existe une raideur de nuque sans vomissements. L'examen du L. C. R. met en évidence une discrète réaction méningée (8 lymphocytes - chimiorachie normale) qui a disparu le 3.8.62. Les examens cardiaque et neurologique sont normaux. L'auscultation pulmonaire décèle quelques râles à la base gauche. La numération-formule sanguine montre une leucocytose de 10.600 globules blancs/mm3, sans autre altération de la formule. La V.S. est à 24/52. L'urée et la glycémie sont normales. Absence de germes pathogènes à l'examen bactériologique de la gorge.

Virologie :

Isolement d'un *virus Coxsackie* B_5 à partir du prélèvement de gorge et des selles du 31.7.62.

OBSERVATION n° 6 :

P... Jean, 16 ans, entre le 20 août 1962 au Service des Maladies Infectieuses.

Il se plaint, depuis le matin, de céphalées, de dorsalgies et de violentes douleurs thoraciques entraînant une légère dyspnée.

A l'admission, la température est à 40° et la nuque est légèrement raide, mais le L. C. R. est normal. Le reste de l'examen clinique est sans particularité.

L'urée, la glycémie, la numération-formule sanguine, la V.S. et la radiographie pulmonaire sont normales, ainsi que l'examen des urines. La réaction de Paul et Bunnel est négative.

Après traitement antibiotique, les douleurs disparaissent rapidement et la fièvre cède en 5 jours.

Virologie :

Isolement d'un *virus Coxsackie* B_5 à partir du prélèvement de gorge du 21.8.62.

CONCLUSION

Ainsi que le démontre la diversité des complications, la Maladie de Bornholm traduit une infection généralisée, mais à symptomatologie musculaire prédominante. Le diagnostic se fera sur la base des données cliniques et épidémiologiques. Mais la certitude sera apportée par le laboratoire (isolement d'un virus Coxsackie B - ascension des anticorps homologues). Le virus peut être isolé dans le rhinopharynx et à partir des selles à la période aiguë. Il a pu être mis en évidence également au niveau des muscles lésés (159).

CHAPITRE II

L'ATTEINTE CARDIAQUE AU COURS DE L'INFECTION A VIRUS COXSACKIE B

Le cardiotropisme des virus Coxsackie B, démontré expérimentalement chez le souriceau, est confirmé en pathologie humaine. Ces virus peuvent être responsables de myocardites aiguës, souvent mortelles chez le nouveau-né, et de péricardites habituellement bénignes. Plus récemment, leur rôle a été invoqué dans la genèse de la fibroélastose de l'endocarde.

I. — La myocardite aiguë

HISTORIQUE

La myocardite interstitielle aiguë est connue depuis longtemps des anatomo-pathologistes. Les premières descriptions histologiques remontent à la fin du 19e siècle et nous citerons en particulier les travaux de Steffen en 1888 et de Freund en 1898.

Elle fut individualisée comme entité anatomo-clinique par Fiedler (348) en 1899 et définie anatomiquement par l'existence isolée d'une infiltration cellulaire du tissu interstitiel myocardique, sans qu'aucun organisme décelable, ni aucune lésion ne permettent d'orienter le diagnostic étiologique.

Les premiers cas cliniques chez l'enfant furent rapportés par Zuppinger en 1901 et Forster en 1905, et la première étude d'ensemble fut réalisée par Saphir en 1942 et 1944 (485 - 486).

Mais l'étiologie de ces myocardites, dites primitives, reste inconnue.

Pour expliquer cette infiltration cellulaire du myocarde, l'état thymo-lymphatique, une origine allergique ou toxique, une atteinte rénale, des troubles carentiels et métaboliques furent tour à tour invoqués sans être confirmés.

La survenue fréquente de ces myocardites par petits foyers épidémiques (ceci a été signalé en particulier dès 1952 par Mademoiselle STOEBER à Munich, 503) plaide en faveur d'une origine infectieuse, bactérienne ou virale. C'est cette dernière hypothèse qui est la plus satisfaisante. En effet, s'il est habituellement impossible de démontrer une infection bactérienne contemporaine chez les malades (absence de germes dans le sang et le myocarde, absence d'anticorps anti-microbiens), on peut, par contre, isoler parfois un virus à partir de la gorge ou des selles. De plus, il est possible de produire expérimentalement, chez l'animal, des myocardites virales dont les lésions histologiques sont très voisines de celles observées dans la myocardite primitive de FIEDLER. Enfin, une atteinte myocardique avec une image histologique semblable peut être observée au cours de certaines maladies à virus (rougeole, variole, varicelle, oreillons, grippe...). Au cours de la poliomyélite en particulier la myocardite est fréquente et bien connue. Elle peut se manifester par une simple altération du tracé électrocardiographique, plus rarement par des signes d'insuffisance cardiaque. Parfois elle est cliniquement latente, mais l'étude anatomo-pathologique permet de déceler des lésions du myocarde. Cependant, le plus souvent, il manque un argument essentiel, le seul qui puisse emporter la conviction, c'est-à-dire l'isolement du virus à partir du muscle cardiaque.

La responsabilité des virus Coxsackie B fut rapidement soupçonnée. La myocardite figure en effet parmi les complications de la maladie de Bornholm. De plus, les travaux expérimentaux chez l'animal ont démontré formellement le cardiotropisme de ces virus, non seulement chez le souriceau nouveau-né, mais parfois aussi chez la souris adulte.

Leur rôle dans la genèse de certaines myocardites primitives humaines fut suspecté dès 1952 par JAVETT et coll. (398) à la suite d'une petite épidémie de maternité qui put être rattachée à un virus Coxsackie B_3 :

— En octobre et novembre 1952, alors qu'une épidémie de maladie de Bornholm sévissait dans la population de Johannesburg, 10 nouveau-nés, âgés de 5 à 17 jours, tombèrent brusquement malades dans la Maternité où ils étaient nés ou peu après leur sortie. Six moururent rapidement en état de collapsus circulatoire et 4 guérirent sans séquelles en 8 à 15 jours. L'autopsie de 3 de ces enfants révéla une myocardite focale avec infiltration cellulaire polymorphe à prédominance mononucléaire, ainsi qu'une congestion hémorragique plus ou moins intense de nombreux viscères. Toutes

les investigations bactériologiques furent négatives. Les recherches virologiques permirent de mettre en évidence dans les selles de 2 survivants, un virus capable de produire chez le souriceau des lésions nécrotiques du cerveau et des coussinets adipeux, lésions caractéristiques des virus Coxsackie B. Dans l'un des cas, le virus put être transmis en série et fut identifié par les tests d'immunité croisée comme un virus de type B_3. Des lésions comparables furent obtenues chez les souriceaux inoculés avec des suspensions cérébrales provenant de 2 nourrissons autopsiés. Il n'y eut malheureusement pas d'étude sérologique.

— En 1954, une épidémie semblable fut observée par MONTGOMERY et coll. (452) : dans une Maternité de Rhodésie du Sud, 3 nourrissons présentèrent peu après leur naissance une maladie aiguë fébrile, avec signes de myocardite. Deux guérirent en 8 jours, mais le troisième succomba au cours d'une crise convulsive. L'autopsie révéla une myocardite focale. Par contre, le cerveau, les poumons, le foie et les reins, bien que légèrement congestifs, ne présentaient pas de lésions. Un virus Coxsackie B_4 fut isolé à partir des selles de cet enfant et de l'un des survivants. Des cas de pleurodynies et de méningo-encéphalites dus à ce virus furent signalés à cette époque dans la même région.

A la suite de ces 2 observations, le rôle probable des virus Coxsackie B dans l'étiologie de certaines myocardites aiguës fut évoqué par GEAR au Troisième Congrès International de la Poliomyélite à Rome, en 1954 (363).

Une preuve formelle fut bientôt apportée par l'isolement d'un virus Coxsackie B_2 à partir du myocarde d'un enfant décédé brusquement à l'âge de 9 jours, et dont la myocardite fut confirmée histologiquement (365). Des résultats comparables ont été obtenus ultérieurement par d'autres auteurs (338 - 344 - 388 - 410).

Chez les nouveau-nés, la myocardite ne représente souvent qu'une des manifestations d'une maladie plus généralisée, et peut s'accompagner de nombreuses autres lésions viscérales. L'évolution en est souvent mortelle.

Plusieurs cas ont également été décrits chez des enfants plus âgés et des adultes. Chez ceux-ci l'atteinte cardiaque est souvent isolée et évolue toujours vers la guérison.

A. — LA MYOCARDITE AIGUE DU NOUVEAU-NÉ

Depuis les observations de JAVETT et coll. (398) et MONTGOMERY et coll. (452) plusieurs épidémies de Maternité ont été décrites en Hollande

(524 - 529), en Afrique du Sud (504) et en Europe Centrale (338 - 432 - 525). Quatre épidémies ont été associées à un virus Coxsackie B_3 (338 - 398 - 504 - 525) et deux à un type B_4 (524 - 452).

Plusieurs cas sporadiques ont également été publiés : les virus isolés appartiennent aux types B_3 (409 - 433), B_4 (344 - 388 - 410 - 467 - 489), plus rarement B_2 (365) et B_5 (438).

En France, nous citerons la publication de BACH, SERINGE et BOCQUET (282) qui concerne une infection néo-natale à virus Coxsackie B_3 chez des jumeaux bivitellins :

— Le premier a présenté au 5e jour de la vie une méningo-encéphalite ainsi qu'un ictère grave avec purpura et signes d'insuffisance hépatique, qui ont entraîné la mort après une évolution de 5 jours. L'autopsie a montré des lésions d'encéphalite, une nécrose hépatique étendue et des lésions discrètes du myocarde.

— Chez le second, la maladie s'est traduite également par l'apparition d'une méningo-encéphalite au 9e jour de la vie, suivie de signes d'insuffisance cardiaque avec collapsus mortel le 13e jour. L'étude anatomo-pathologique a révélé une atteinte sévère du parenchyme myocardique et des lésions d'encéphalite. L'étude virologique a été réalisée à l'Institut Pasteur par Mme CARRE, Mme VIRAT et MAURIN (305). Un virus Coxsackie B_3 fut isolé sur cultures cellulaires à partir des selles et du liquide céphalo-rachidien des deux enfants, mais l'étude sérologique ne décela pas d'anticorps neutralisants homologues dans leur sang. Par contre, ceux-ci étaient présents chez les parents au taux de 1/16. Il semble donc s'agir d'une infection familiale, où les parents ont fait des formes inapparentes.

Deux observations ont également été rapportées par SURJUS (250) :

— Dans la première, l'auteur signale l'isolement d'un virus Coxsackie B_3 à partir du muscle cardiaque d'un enfant mort à l'âge de 2 jours avec une symptomatologie d'hémorragie méningée. A l'autopsie, lésions hémorragiques des méninges et broncho-pneumonie. Le cœur est plus gros et plus flasque que normalement, mais le myocarde ne présente pas de lésions histologiques. Les autres organes sont normaux ou congestionnés. Le même virus fut isolé chez la mère qui décéda d'une septico-pyohémie deux jours après la mort de son enfant.

— La seconde concerne deux cas mortels de myocardite chez des jumeaux bivitellins. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir du rhino-pharynx et du myocarde des deux enfants. L'autopsie a mis en évidence l'association de lésions nécrotiques du myocarde avec des images de fibro-élastose endocardique.

Toutes ces observations concernent de très jeunes enfants âgés de quelques heures (410) à 7 semaines (388), mais la plupart avaient moins de 8 jours lorsqu'ils tombèrent malades.

1°) LE TABLEAU CLINIQUE

a) *Prodromes : un épisode infectieux précède fréquemment l'apparition* de la myocardite. Souvent discret, il survient habituellement 2 à 15 jours avant les premiers signes de défaillance cardiaque. Il s'agit le plus souvent d'un simple état fébrile isolé ou accompagné d'une infection du tractus respiratoire (rhinite, pharyngite, plus rarement infection broncho-pulmonaire), de manifestations digestives (anorexie, nausées, vomissements, diarrhée) ou de signes d'atteinte encéphalo-méningée. Ces symptômes disparaissent parfois rapidement et une période asymptomatique de quelques jours peut alors précéder l'apparition de l'insuffisance myocardique (344 - 409). Mais celle-ci peut aussi apparaître brutalement, sans prodromes, et entraîner la mort en quelques heures.

b) *La période d'état :* elle est caractérisée par un tableau d'asystolie aiguë. Il peut s'y associer de façon variable des signes infectieux, des manifestations neurologiques ou plus rarement des signes d'atteinte hépatique.

— *Signes fonctionnels et généraux :* La dyspnée est un symptôme presque constant. Elle est précoce et représente souvent le premier signe de la défaillance cardiaque. Elle peut s'installer progressivement ou survenir brutalement. Elle peut évoluer par accès paroxystiques séparés par des périodes d'accalmie. C'est une polypnée, rapide et superficielle, avec battements des ailes du nez et parfois tirage.

Elle s'accompagne fréquemment d'une cyanose péribuccale ou localisée au niveau des extrémités.

L'enfant est généralement pâle ou gris, tantôt asthénique, abattu, somnolent, tantôt agité et couvert de sueurs. Parfois il gémit et semble souffrir.

Les troubles digestifs sont fréquents : anorexie et refus d'alimentation, vomissements et plus rarement diarrhée.

Une petite toux sèche, assez caractéristique de l'œdème pulmonaire, peut être observée.

- *Signes physiques :* l'auscultation met habituellement en évidence une

tachycardie élevée, de l'ordre de 180 à 200 pulsations par minute, parfois plus, généralement régulière et sans rapport avec l'élévation thermique qui est nulle ou discrète. Les bruits cardiaques peuvent être assourdis (388 - 410). On peut percevoir un bruit de galop (388 - 398) ou plus rarement un souffle systolique, apexien, sans irradiation (331 - 344).

L'examen des poumons est souvent négatif. On décèle parfois quelques râles fins d'œdème pulmonaire au niveau des bases (398 - 410).

Le pouls est rapide et petit. La tension artérielle est normale ou légèrement abaissée avec, parfois, un pincement de la différentielle.

L'hépatomégalie est fréquente. C'est un gros foie cardiaque, de consistance ferme, souvent douloureux. Il dépasse de 2 à 6 travers de doigt le rebord costal (331 - 410). Sa pression peut entraîner un reflux hépato-jugulaire.

Des œdèmes périphériques peuvent être observés. Ils prédominent au niveau des membres inférieurs et traduisent la défaillance circulatoire (344 - 398 - 410).

La cardiomégalie est également fréquente, mais non constante. Elle se traduit rarement par une voussure précordiale, plus souvent par une augmentation de l'aire de matité cardiaque.

— *L'examen radiologique* met en évidence un élargissement de l'ombre cardiaque. Ce signe est précoce et peut être observé dès l'apparition des premiers symptômes cliniques. Ce gros cœur est généralement globuleux, augmenté dans tous ses diamètres. Mais l'augmentation de volume prédomine parfois au niveau du ventricule gauche, plus rarement au niveau des cavités droites. Les battements sont souvent affaiblis. La cardiomégalie est très discrète ou absente (507).

L'examen pulmonaire peut montrer des images floconneuses périhilaires ou basales, traduisant la défaillance circulatoire, ou des images d'atélectasie.

— *Le tracé électrocardiographique* peut être normal, même en présence d'une myocardite sévère, rapidement mortelle (331 - 398).

Mais il montre habituellement des altérations qui peuvent être multiples et variables d'un examen à l'autre. Il révèle généralement une tachycardie sinusale à 150 - 200 pulsations par minute, régulière, souvent associée à un bas voltage des complexes rapides et à des troubles de la repolarisation. Ceux-ci peuvent se traduire par un allongement de QT,

mais surtout par des anomalies des ondes T : aplatissement ou inversion de ces ondes, symétrique ou non, dans les dérivations périphériques, mais surtout dans les dérivations précordiales qui explorent le ventricule gauche. Le segment S-T est parfois sous-dénivelé. Ces anomalies ne sont pas spécifiques et se rencontrent également dans les péricardites.

Plus caractéristiques sont les troubles de la conduction intramyocardique. On peut enregistrer des blocs de tous degrés, surtout du 1er degré avec allongement de l'espace P-R, plus rarement une dissociation auriculo-ventriculaire complète. Des blocs de branche droit ou gauche peuvent également être observés.

Ces signes électrocardiographiques apparaissent plus ou moins précocement. Dans une observation de VANECK (525) les anomalies électriques n'ont débuté qu'au 14e jour de la maladie. Elles persistent souvent plusieurs semaines.

Parfois les perturbations de l'E.C.G. représentent le seul moyen de dépister une myocardite cliniquement silencieuse (SPRUNT, cité par SUSSMANN, 507).

— *L'étude biologique* n'est pas toujours réalisée en raison de la rapidité de l'évolution. De toutes façons les examens de routine n'apportent que peu de renseignements. La V.S. est normale ou discrètement accélérée. L'hémogramme est sans particularité. Le bilan rénal est souvent normal. Une légère albuminurie et azotémie, conséquences de l'asystolie sont parfois observées. L'hémoculture est stérile.

ROSSI (476) a proposé de rechercher dans le sérum les enzymes libérées par la destruction des fibres du muscle cardiaque. Il existe dans la myocardite une augmentation du taux des transaminases glutamiques oxalacétiques (S.G.O.T.) et une élévation de la créatininkinase et de la deshydrogénase lactique. Les transaminases pyruviques ne sont pas augmentées, sauf dans les cas où il existe une atteinte hépatique concomittante. Le dosage de ces enzymes serait d'une grande importance dans le diagnostic différentiel précoce.

c) *Les signes associés :* Ils peuvent modifier ce tableau clinique. Parfois ils prédominent et masquent les signes cardiaques.

— *Un syndrome infectieux* est fréquemment observé et peut faire penser à une étiologie bactérienne. La fièvre qui accompagnait l'épisode prodromique peut avoir disparu lorsqu'apparaissent les signes d'asystolie, mais elle persiste souvent. Parfois élevée, dépassant 39°, elle peut être plus discrète et de limiter à un simple état subfébrile. Elle peut évoluer

en deux poussées séparées par une rémission de quelques jours et donne alors une courbe biphasique comparable à celle décrite au cours de la maladie de Bornholm. Elle peut s'accompagner d'une accélération de la V.S., d'une leucocytose sanguine avec polynucléose.

— *Des signes d'atteinte encéphalo-méningée* sont fréquemment associés à la myocardite (282 - 344 - 398 - 409). Selon Bach et coll. (282), ils seraient présents dans 37 % des cas. Ils peuvent se traduire par des convulsions (410), des modifications des réflexes ostéo-tendineux ou une abolition des réflexes archaïques (344 - 410), des troubles du tonus — hypotonie (282), ou au contraire hypertonie avec tendance à l'opisthotonos (507) — un nystagmus (432), parfois une simple apathie ou somnolence. Ces signes de souffrance cérébrale sont d'interprétation délicate : il est difficile de savoir s'ils traduisent une localisation neurologique de la virose, réalisant le tableau d'une « encéphalo-myocardite », ou s'ils sont la conséquence de l'anoxie cérébrale, due au déficit circulatoire.

La participation méningée est fréquente (282 - 344 - 409 - 507 - 524). Elle peut se manifester par un syndrome clinique (raideur, signe de Kernig, bombement de la fontanelle), mais elle n'est souvent décelée qu'à l'examen du L.C.R. Celui-ci révèle une pléiocytose d'importance variable, de 4 à 1.000 cellules/mm^3, parfois plus. Chez l'un des malades de Bach et coll. (282), la leucocytose rachidienne atteignait 1.696 éléments/mm^3. Les lymphocytes prédominent habituellement (80 à 95 %) et les polynucléaires ne sont pas altérés. L'albuminorachie est variable, de 30 mg à 200 mg pour 100 ml (344), ainsi que la glycorachie qui atteint 120 mg pour 100 ml dans l'observation de Sussman (507).

— Certaines observations rapportent *des signes d'atteinte hépatique* (282 - 388 - 410 - 525). Celle-ci se traduit par un ictère, associé ou non à un syndrome hémorragique (282 - 388 - 410). Cet ictère précède fréquemment les manifestations nerveuses et cardiaques (282 - 525).

— *Un rash* a également été décrit (410) et *la rate* est souvent palpable (388 - 398 - 524), sans que ce signe ait grande valeur chez le très jeune enfant.

— *Enfin des manifestations broncho-pulmonaires ou pleurales* avec signes fonctionnels, physiques et radiologiques anormaux peuvent masquer plus ou moins la symptomatologie cardiaque.

d) *Evolution* : Chez le nouveau-né, la myocardite aiguë à Coxsackie B est habituellement sévère et presque toujours mortelle. L'insuffisance cardiaque aboutit rapidement, en quelques jours, parfois quelques heures, à un collapsus fatal. Des cas de guérison ont cependant été décrits.

Sous l'influence du traitement déplétif et tonicardiaque, la dyspnée disparaît rapidement, le rythme cardiaque se ralentit et le foie reprend progressivement un volume normal. Mais la cardiomégalie et les altérations électrocardiographiques peuvent persister plusieurs semaines. Jusqu'à présent aucune séquelle n'a été signalée, bien qu'il semble qu'une fibrose myocardique puisse se constituer lorsque la maladie évolue suffisamment longtemps (494). Ainsi que nous le verrons ultérieurement, certains auteurs (355 - 356) estiment que la myocardite inflammatoire pourrait évoluer vers la chronicité et permettre la constitution d'une fibroélastose de l'endocarde.

Ces myocardites aiguës du nouveau-né sont souvent difficiles à différencier des cardiopathies congénitales précocement décompensées. Ces deux sortes d'affections peuvent en effet se traduire par des signes fonctionnels physiques et électriques identiques. La perception d'un souffle intense à l'auscultation, le caractère sévèrement cyanogène de la maladie, la présence éventuelle de signes d'hypertrophie ventriculaire droite orienteront de préférence vers une malformation cardiaque, surtout si ces manifestations ne s'accompagnent d'aucun signe infectieux ni neurologique. Mais souvent seuls les résultats de l'autopsie permettront de poser un diagnostic exact.

2°) L'ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE

Elle permet de confirmer le caractère généralisé de l'infection chez le nouveau-né. Non seulement le cœur, mais le système nerveux et de nombreux autres viscères peuvent être le siège de lésions inflammatoires et nécrotiques. Kibrick et Benirscke (410) ont établi une petite statistique histopathologique portant sur 15 cas mortels : la myocardite focale serait présente dans 100 % des cas, la méningo-encéphalite ou les lésions hépatiques dans 67 %, la pancréatite dans 57 % et la nécrose des surrénales dans 11 %.

— *Le cœur :* Son atteinte semble constante au cours de l'infection mortelle du nouveau-né, mais la sévérité des lésions est variable selon les observations, et n'est pas toujours proportionnelle aux constatations cliniques.

L'aspect macroscopique ne reflète pas toujours l'intensité des lésions histologiques. Très souvent on découvre, à l'ouverture du thorax, un cœur volumineux. L'augmentation de volume est due à la fois à une dilatation

des cavités et à une hypertrophie du myocarde, qui peuvent être globales, mais qui prédominent habituellement au niveau des ventricules et particulièrement au niveau du ventricule gauche. A la coupe, le myocarde apparaît pâle ou congestif, parfois tacheté. Un aspect non homogène constitué de stries jaunâtres alternant avec des zones brunâtres a été décrit par KIBRICK et coll. (409), mais seulement après fixation dans le formol. L'hypertrophie myocardique se traduit par une augmentation de poids de l'organe. Le sac péricardique est habituellement normal. Il contient rarement un petit épanchement séro-fibrineux ou hémorragique (344 - 398). Des pétéchies sont parfois visibles sur l'épicarde (344 - 410 - 507) de même que sur le myocarde (507). L'endocarde est normal, ainsi que le système valvulaire. JAVETT et coll. (398) signalent cependant dans un cas un léger épaississement de l'endocarde.

Parfois le cœur conserve un volume normal (344 - 507) et le myocarde ne présente pas de modifications macroscopiques.

Par contre les lésions histologiques sont pratiquement constantes. Au niveau du *myocarde* l'examen microscopique met en évidence des foyers de lésions inflammatoires et dégénératives, comparables à celles décrites chez le souriceau. Plus ou moins diffuses, elles peuvent siéger dans n'importe quelle partie du muscle cardiaque, mais se localisent de préférence au niveau de la paroi ventriculaire gauche (282 - 344 - 409 - 507). Parfois elles sont très discrètes et de nombreuses coupes sont nécessaires pour les découvrir. Selon plusieurs auteurs (398 - 409) la région sous-endocardique serait plus fortement lésée que la zone sous-épicardique. Par contre BACH et coll. (282) insistent sur le siège plus volontiers sous-épicardique des foyers de nécrose.

A leur niveau les fibres musculaires subissent une dégénérescence fragmentaire avec gonflement œdémateux, altération des propriétés tinctoriales, perte de la double striation, pycnose et lyse des noyaux, aboutissant à la nécrose. Elle peut s'accompagner d'un œdème interfasciculaire et d'une infiltration cellulaire interstitielle, plus ou moins diffuse, et polymorphe. Celle-ci est constituée de grandes cellules mononucléées à noyau vésiculeux et cytoplasme vacuolaire, qui représentent souvent l'élément dominant, associées à des lymphocytes, plasmocytes, histiocytes, polynucléaires neutrophiles avec parfois quelques éosinophiles. Elle siège de préférence autour des vaisseaux. Une infiltration à prédominance polynucléaire a été plus rarement décrite (409 - 494).

Lésions nécrotiques et inflammatoires sont habituellement associées, mais des infiltrats peuvent également être observés en dehors des foyers de nécrose. La congestion capillaire est fréquente.

Le péricarde (344 - 398 - 409 - 410) et plus rarement l'endocarde (398)

peuvent aussi être le siège d'une infiltration cellulaire inflammatoire. Les valvules sont généralement intactes (507 - 524).

On observe habituellement pas de signes de cicatrisation myocardique avec calcification et prolifération fibroblastique en raison de la rapidité de l'évolution. Cependant, SIMENHOFF et coll. (494) ont décrit de telles manifestations dans 2 cas de myocardite qui ont évolué pendant plus d'une semaine.

— *Le système nerveux* est fréquemment atteint.

Macroscopiquement, les seules modifications observées sont un œdème cérébral et une congestion des vaisseaux méningés et cérébraux.

Histologiquement, les lésions sont plus sévères. Elles ont été surtout étudiées au niveau du *tissu cérébral*. Elles peuvent intéresser la substance blanche (331 - 344 - 398) et les noyaux gris centraux (282 - 410 - 524). Il peut s'agir de phénomènes congestifs avec pétéchies hémorragiques (398), d'infiltrats cellulaires à prédominance mononucléée localisés préférentiellement autour des capillaires (282 - 331 - 388 - 398)., parfois accompagnés d'une discrète réaction gliale (282 - 524), mais aussi de lésions dégénératives des cellules nerveuses (388 - 409). Les plexus choroïdes peuvent également être le siège d'une infiltration cellulaire (388 - 410 - 453).

Mais de telles lésions peuvent intéresser aussi :

le tronc cérébral (344 - 388 - 409) : Selon FECHNER (344) et MOOSSY (453), la localisation la plus constante et la plus sévère serait le noyau olivaire inférieur.

le cervelet (398 - 409 - 507) qui est généralement épargné chez le souriceau.

la moelle : En plus d'une infiltration et d'une destruction de la substance blanche (410), des lésions des cellules ganglionnaires des cornes antérieures ont été décrites à plusieurs reprises. Elles peuvent consister en une simple infiltration inflammatoire (344), mais celle-ci s'accompagne parfois de lésions dégénératives avec ou sans neuronophagie (409 - 453). Selon KIBRICK (409) elles peuvent siéger à toutes les hauteurs de la moelle, mais de préférence au niveau de la région thoracique. Des altérations des cellules ganglionnaires du noyau olivaire inférieur ont également été observées (410 - 453). Cependant de telles lésions ne sont ni aussi constantes ni aussi sévères que dans la poliomyélite.

— *les méninges* sont fréquemment le siège d'une infiltration cellulaire inflammatoire à mononucléaires, associée à de l'œdème et à une congestion des vaisseaux (331 - 344 - 409 - 507).

— *le foie* est plus ou moins hypertrophié.

L'atteinte est le plus souvent discrète. Elle peut se limiter à de simples lésions congestives ou de dégénérescence graisseuse (344 - 398). Mais des foyers inflammatoires, associés ou non à des foyers de nécrose des cellules hépatiques (dégénérescence éosinophile, puis cytolyse) sont souvent mis en évidence (344 - 410 - 507 - 524).

Parfois les lésions sont plus sévères et aboutissent à une nécrose massive pouvant atteindre la majeure partie du parenchyme hépatique (282 - 388 - 410).

— *le pancréas* peut aussi être le siège d'une infiltration cellulaire inflammatoire à prédominance mononucléée (344 - 410) ou constituée essentiellement de polynucléaires (409), parfois accompagnée d'une nécrose des acini (410). Sussman et coll. (507) ont décrit une dégénérescence focale aiguë limitée aux ilôts de Langerhans, sans réaction inflammatoire, ni lésions du pancréas exocrine.

— *la cortico-surrénale* présente parfois une congestion intense et hémorragique (398), mais aussi des foyers inflammatoires et nécrotiques intéressant uniquement le tissu fœtal (282 - 409 - 507). Le cortex adulte et la médullo-surrénale sont habituellement normaux.

— *au niveau des poumons*, la plèvre est souvent œdématiée et congestionnée, parfois couverte de pétéchies (507) et infiltrée de cellules inflammatoires (398 - 409).

Le parenchyme présente fréquemment des foyers congestifs et hémorragiques (282 - 344 - 409 - 507) ou des zones d'atelectasie (344). Des lésions de pneumonie interstitielle avec infiltration cellulaire des septa interalvéolaires ont été décrites à plusieurs reprises (331 - 344 - 507). Bach et coll. (282) signalent dans un cas une endartérite pulmonaire pouvant expliquer un foyer d'infarcissement hémorragique.

— *la rate* peut être légèrement hypertrophiée. Une nécrose centrale des follicules de Malpighi (398 - 410) avec, parfois, une prolifération des cellules réticulaires (398), une congestion des sinusoïdes (507), une hémosidérose légère (507) ont été rapportées.

— Plus rarement on découvre une congestion et une nécrose centrale des *ganglions lymphatiques* (398). Une adénite mésentérique aiguë a été décrite par Sussman (507).

— des foyers inflammatoires et nécrotiques ont également été signalés au niveau de *la moelle osseuse* des corps vertébraux (388 - 507) et dans *l'hypophyse* (507).

— Kibrick et Benirscke (410) décrivent une nécrose du *tissu graisseux* qui entoure certains viscères, tels que la thyroïde et les surrénales, sans réaction inflammatoire.

— *les muscles striés* ont été rarement étudiés. Sussman (507) après avoir examiné le psoas, le diaphragme, les muscles intercostaux et ceux de la nuque et de la langue, n'a trouvé qu'un petit foyer de nécrose au niveau d'un muscle intercostal avec des lésions histologiques comparables à celles décrites chez le souriceau.

— peu d'observations concernent *l'appareil digestif :* œdème, pétéchies hémorragiques et érosions superficielles des muqueuses œsophagienne et gastrique (410), infiltration inflammatoire mononucléée de la muscularis de l'estomac (410) et de l'intestin grêle (344) sont les principales lésions décrites.

— Bach et coll. (282) signalent une discrète infiltration mononucléée et éosinophile du *thymus*.

— *les reins* ne sont habituellement pas lésés. Van Creveld et coll. (524) décrivent cependant quelques foyers de cellules inflammatoires (lymphocytes et éosinophiles) dans le cortex.

En réalité, il est assez difficile de se faire une opinion sur la fréquence de ces dernières lésions, car en dehors du cœur, du système nerveux, du foie, du pancréas et des surrénales, les autres tissus n'ont été que rarement étudiés.

De même que chez le souriceau, il n'a jamais été possible de mettre en évidence des corps d'inclusions au niveau des lésions. Mais la responsabilité des virus Coxsackie B dans leur histopathogénie est prouvée, le plus souvent, par l'isolement du virus à partir du tissu lésé : myocarde (338 - 344 - 388 - 410 - 467 - 524), cerveau (338 - 410 - 432 - 456

467), moelle (409), foie (338 - 344 - 410), pancréas (338 - 344), poumons (338 - 344), rate (338 - 344), reins (344 - 467). Dans les autres organes, l'aspect histologique, qui est très comparable à celui des tissus précédents, est également en faveur de l'étiologie virale.

D'après Domok et Molnar (338), le titre du virus serait 1.000 fois plus élevé dans le cœur que dans les autres organes (cœur, 10^7, système nerveux, foie, rate, pancréas 10^4 et poumons 10^3 DL 50). Des résultats comparables ont été obtenus par Rapmund et coll. (467).

Cette dissémination des lésions est en faveur d'une virémie. Un virus Coxsackie B_3 a été isolé par Steigman et Lipton (500) dans le sang d'un enfant nouveau-né (5e jour de la vie) présentant une encéphalite qui a évolué vers la guérison.

B. — LA MYOCARDITE AIGUE DE L'ENFANT ET L'ADULTE

Bien que plus rare, une atteinte myocardique a été décrite à plusieurs reprises chez des nourrissons, des enfants plus âgés et des adultes au cours d'une infection par un virus Coxsackie B_1, B_2, B_3 et B_5.

— Mc Lean et coll. (437) : myocardite chez un enfant de 5 ans associée à un virus Coxsackie B_2. Isolement du virus dans les selles et présence d'anticorps neutralisants spécifiques.

— Varcasia et coll. (526) : myocardite subaiguë chez un enfant de 2 ans et demi. Isolement d'un virus Coxsackie B_5 dans les selles et ascension du taux des anticorps neutralisants et fixant le complément homologues.

— Hosier et coll. (388) : après une infection respiratoire, apparition de signes de défaillance cardiaque chez un garçon de 5 ans. Guérison en deux semaines sans séquelles. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé à partir des selles et l'étude sérologique mit en évidence une ascension des anticorps neutralisants correspondants (de 1/10 à 1/50).

— Null et Castle (457) : au cours d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5 qui a sévi à Salt Lake City au cours du printemps et de l'été 1957, 2 cas de péricardite associée à une atteinte myocardique confirmée à l'E.C.G. sont décrits chez des adultes de 24 et 35 ans. Malgré des signes d'insuffisance cardiaque sévère, l'évolution a été favorable. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé à partir des selles et de la gorge de l'un des malades. Tous les deux possédaient des anticorps neutralisants homologues au taux de 1/128 à la période de convalescence.

— Stern (502) : myocardite associée à une laryngotrachéite aiguë chez un nourrisson de 4 mois. L'infection Coxsackie B_5 fut confirmée par l'isolement du virus dans la gorge et par l'étude sérologique.

— Agranat (278) : description d'un cas sévère de myocardite avec péricardite chez un adulte. Isolement d'un virus Coxsackie B_1 dans les selles.

— Connolly (313) : myocardite chez un garçon de 12 ans au cours d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5 dans une école préparatoire de juin à juillet 1960. Après un épisode infectieux aigu avec fièvre, céphalées, pharyngite, vertiges, douleurs thoraciques, abdominales et dorsales, cet enfant présente, 19 jours après le début de la maladie, une tachycardie avec altérations du tracé électrocardiographique traduisant une myocardite. L'E.C.G. est normal 3 mois plus tard. Un virus Coxsackie B_5 est isolé à partir des matières fécales prélevées au premier jour de la maladie. Les sérums du 62e et 94e jour neutralisent le virus à la dilution de 1/180.

— Glajchen (372) : description d'un cas de pleurodynie avec myocardite et méningite abactérienne chez une jeune femme de 24 ans à Johannesburg. Une épidémie d'infections à virus Coxsackie sévissait alors dans la région. La myocardite fut confirmée par l'E.C.G. Une éruption maculaire apparut à la suite de l'administration de corticoïdes. Un virus Coxsackie B_1 fut isolé à partir du L.C.R. et des selles. Les anticorps neutralisants spécifiques, absents au début de la maladie, étaient présents à un titre élevé 6 semaines plus tard.

— *Le tableau clinique* de la myocardite, bien que généralement moins sévère, est semblable à celui décrit chez le nouveau-né, de même que les altérations du tracé électrocardiographique. Il s'y associe fréquemment, chez l'adulte, des signes de péricardite (278 - 457). L'atteinte cardiaque est souvent isolée. Dans deux observations, elle s'est manifestée à la suite d'une attaque de pleurodynie (313 - 372 - 509). Dans un cas, elle était associée à une méningite abactérienne et à une éruption maculaire qui est apparue à la suite de l'administration de corticoïdes (372).

L'évolution se fait toujours vers la guérison, mais les troubles électriques peuvent persister plusieurs semaines. Aucune séquelle n'a été décrite. Un cas mortel a cependant été signalé récemment par Friderichsen (354) chez une fillette de 8 mois. L'étude anatomo-pathologique montra une myocardite focale, des adénopathies mésentériques, une hyperplasie du thymus, une congestion du cerveau, du foie, du pancréas et des surrénales,

mais sans lésions. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir du myocarde. On ne retrouve donc pas le caractère généralisé de l'infection qui caractérise la maladie néo-natale.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Cas n° 1 : Nous avons eu l'occasion d'observer une myocardite chez un nourrisson de 1 an dont l'infection par un virus Coxsackie B_2 fut démontrée par les études virologique et sérologique.

L'enfant *M... Bernard* est admis le 13 juin 1961 à la Clinique Médicale Infantile.

Rien n'est à signaler dans ses antécédents. Il s'est développé normalement et n'a jamais été malade jusqu'à la veille de son hospitalisation. Puis, brusquement, il se plaint et devient pâle et dyspnéique. La température monte à 39°. Il vomit et refuse toute alimentation.

A l'entrée, l'état est inquiétant. L'enfant est pâle et fatigué. La respiration est rapide et superficielle. La température est à 38°. A l'auscultation les bruits cardiaques sont sourds et très rapides. Il existe un bruit de galop, mais pas de souffle. Le foie, douloureux, déborde de 3 travers de doigt le rebord costal. A la radioscopie on découvre un gros cœur globuleux, augmenté dans tous ses diamètres, mais surtout par son ventricule gauche, ainsi qu'une opacité du poumon droit.

L'E.C.G. révèle une tachycardie sinusale à 200/mn et un axe électrique vertical. Les ondes T sont aplaties dans toutes les dérivations périphériques et précordiales avec microvoltage des complexes Q R S. L'examen des urines est normal. Numération-formule : G. R. = 3.000.000/mm3, valeur globulaire = 0,90, G. B. = 3.000/mm3, dont 84 % de polynucléaires. La cuti-réaction est négative, ainsi que la coproculture.

L'enfant reçoit de la Digitaline (8 gouttes pendant 2 jours), puis de la Coramine (6 gouttes jusqu'à la sortie) et des antibiotiques.

Une amélioration se produit dès le lendemain de l'hospitalisation. La polypnée persiste ainsi que la tachycardie, mais le bruit de galop a disparu et le foie ne déborde plus que d'un travers de doigt.

Le 15 juin, le rythme cardiaque est normal. La dyspnée a disparu et le foie a repris un volume normal.

Le 16 juin, on observe une arythmie complète lente. Un nouveau tracé montre un rythme à 95, un axe électrique à + 120° et une négativation des ondes T en dérivations précordiales de V_1 à V_4 avec une dissociation auriculo-ventriculaire complète. Il existe par ailleurs une longue phase allorythmique par alternance d'un bloc auriculo-ventriculaire du premier et du second degré (de type 2/1). Les complexes Q R S sont mieux voltés.

Le 19 juin, le rythme s'est régularisé à 100 par minute. L'axe est à + 60°. On note une extension des troubles de la repolarisation : ondes T négatives jusqu'en V_4 et diphasiques de V_4 à V_6. Le bloc auriculo-ventriculaire complet s'est dégradé en bloc du 1er degré (espace P — R = 22/100e sec.).

L'E. C. G. du 23 juin est peu différent du précédent : rythme à 115 par minute. Axe à — 10°. Persistance d'une onde T négative jusqu'en V_8 et d'un bloc auriculo-ventriculaire du 1er degré, mais moins accentué. (P — R = 18 à 20/100e sec.).

Le 5 juillet : même rythme, même axe électrique à — 10°. Les ondes T se repositivent en dérivations précordiales gauches, mais elles restent négatives de V_1 à V_4. Le bloc auriculo-ventriculaire a disparu (espace P — R = 14/100e sec.).

Le 11 juillet, le rythme est normal, l'axe électrique est à — 20°, mais la négativation des ondes T persiste.

L'enfant quitte le Service le 19 juillet cliniquement guéri, mais par suite de la persistance de la cardiomégalie et des anomalies des ondes T à l'E. C. G., un traitement tonicardiaque d'entretien est prescrit (5 gouttes de Digitaline 2 fois par semaine).

Bilan Virologique : dans les selles et le prélèvement de gorge du 14 juin on a isolé un *virus Coxsackie de type* B_2. Ce virus ne fut pas retrouvé dans les prélèvements du 27.6.61. Le sérum précoce du 14.6.61 ne contenait pas d'anticorps neutralisants, mais le sérum tardif du 9.8.61 neutralisait le virus à la dilution de 1/64.

Les réactions de fixation du complément étaient négatives pour l'ornithose-psittacose, la grippe et les adénovirus.

Le 9 août 1961, l'enfant revient au Service pour bilan. L'état général est bon. Les auscultations cardiaque et pulmonaire sont normales. Mais, à la radioscopie, le cœur est encore dilaté et l'E.C.G. n'est pas encore normalisé : persistance de la déviation axiale gauche (— 20°) et de la négativation des ondes T de V_1 à V_6.

Cas n° 2 : Nous signalerons également un cas de myocardite aiguë chez un enfant de 2 ans et demi. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé à partir des selles, mais l'absence d'étude sérologique n'a pas permis d'affirmer l'étiologie virale :

B... Jean-Luc est hospitalisé le 13 février 1959 à la Clinique Médicale Infantile pour asystolie aiguë.

Quinze jours auparavant, il a présenté un syndrome fébrile (39°), accompagné de toux et de vomissements. Sous l'influence du traitement antibiotique la fièvre a rapidement disparu, mais l'enfant est resté fatigué et anorexique.

A l'admission il est agité, anxieux et très dyspnéique. Sa respiration est rapide et superficielle et s'accompagne d'un tirage sous-sternal. Son teint est pâle et ses lèvres sont cyanosées. A l'auscultation le cœur est rapide, mais régulier. On entend un bruit de galop, mais pas de souffle. L'examen pulmonaire est normal. Le foie déborde d'un travers de doigt.

L'E. C. G. montre une tachycardie sinusale à 170 par minute, un axe électrique à + 80° et un aplatissement des ondes T en V_6 et V_7.

Une saignée est immédiatement pratiquée. L'enfant est mis sous oxygène et reçoit du Cedilanide intraveineux.

Quelques heures plus tard, une amélioration apparaît et les signes de défaillance cardiaque disparaissent progressivement. L'enfant sort, cliniquement guéri, le

2 mars 1959, mais les anomalies des ondes T persistent. L'E. C. G. est redevenu normal le 25.5.59.

Voici les résultats des examens pratiqués : urines normales, coproculture négative ; numération-formule : légère leucocytose à 11.000 éléments/mm3 avec 82 % de polynucléaires. Urée = 0,47 g/l ; protides totaux = 70 g/l ; électrophorèse : augmentation des α globulines, légère diminution des gamma-globulines. Antistreptolysines = 100 Unités. Cuti-réaction négative.

L'enfant est revu au Service en décembre 1964 à la suite d'un malaise survenu lors d'un épisode infectieux avec angine. L'auscultation cardiaque est alors normale. La cardiomégalie a disparu et l'E. C. G. est sans particularité. La guérison s'est donc effectuée sans séquelles.

Les investigations biologiques ne sont pas en faveur d'une myocardite rhumatismale.

Par contre, l'isolement d'un *virus Coxsackie* B_5 à partir des selles à la période aiguë de la maladie, ainsi que l'atteinte cardiaque isolée et l'évolution rapidement favorable plaident en faveur de cette étiologie virale qui n'a, malheureusement, pu être confirmée par suite de l'absence d'étude sérologique.

II. — La myo-endocardite chronique fibro-élastique du nouveau-né et du nourrisson

Depuis longtemps des lésions de l'endocarde ont été observées à l'autopsie d'enfants morts en asystolie, mais elles furent diversement interprétées et souvent confondues avec des malformations cardiaques.

En 1943, Weinberg (536) décrit 2 cas de *fibro-élastose de l'endocarde*. Depuis, sous ce terme, de nombreuses observations ont été publiées dans plusieurs pays. En France, nous citerons parmi d'autres les travaux de Rohmer, Sacrez et Fruhling (472), Clement, Gerbeaux et Couvreur (312), Lutembacher (434), Caussade, Neimann et coll. (306) et Lascombes (413).

Plusieurs théories se sont efforcées d'expliquer *l'histogénèse* de cette affection. Selon les auteurs, la fibroélastose pourrait avoir une origine malformative (Taussig) ou être la conséquence soit d'un trouble hémodynamique intracardiaque (Black et Schaeffer), soit d'une déficience de la circulation coronarienne entraînant des lésions ischémiques des fibres musculaires sous-endocardiques (Gabler).

Mais la théorie infectieuse semble la plus satisfaisante. Dès 1934, Lauret (414) a décrit, dans sa thèse, un épaississement de l'endocarde associé à une myocardite interstitielle. Depuis, cette association a été

fréquemment retrouvée. Selon FRUHLING et ADAM (355), la myocardite serait pratiquement constante au cours de la fibroélastose et ces deux auteurs ont individualisé, en 1956, sous le nom de « *myoendocardite chronique fibro-élastique du nourrisson* » une nouvelle entité anatomo-pathologique caractérisée :

— *macroscopiquement*, par une hypertrophie et une dilatation cardiaques souvent importantes et par un épaississement blanc, opaque, porcelainé de l'endocarde pariétal,

— *microscopiquement*, par une myocardite interstitielle diffuse avec infiltration cellulaire inflammatoire, associée à une prolifération élastique et fibreuse de l'endocarde.

Les lésions siègent de préférence et parfois exclusivement au niveau du ventricule gauche, plus rarement au niveau des cavités droites. Les valvules ne sont habituellement pas lésées.

Cette affection serait responsable de 1 % des cas de décès chez le nourrisson. Elle évolue essentiellement chez les jeunes enfants et, dans la majorité des cas, la mort survient avant 2 ans. Un cas a cependant été signalé chez un enfant de 9 ans. Elle pourrait même débuter in utero : une myoendocardite fibro-élastique typique avec prédominance de lésions scléreuses sur les lésions évolutives a pu être observée en effet chez un enfant mort-né.

Cliniquement la fibro-élastose se traduit, comme la myocardite aiguë, par des signes d'insuffisance cardiaque. L'évolution est souvent foudroyante. Plus rarement, elle se présente sous forme de crises successives de défaillance cardiaque, mais elle est toujours rapidement mortelle. La radioscopie met en évidence un gros cœur et l'E.C.G. peut montrer, à côté de signes de myocardite, des phénomènes de dépolarisation des couches sous-endocardiques. La maladie est difficile à différencier cliniquement de la myocardite aiguë. Le plus souvent le diagnostic se fait seulement à l'autopsie.

Selon FRUHLING et coll. (355 - 356), la myocardite interstitielle représenterait la lésion initiale. En s'organisant elle donnerait des petits cals scléreux qui, par diffusion et par irritation de contiguïté, provoqueraient la prolifération fibroélastique de l'endocarde. L'hypertrophie et la dilatation cardiaques n'apparaîtraient que tardivement et précèderaient de peu la mort, qui pourrait être due, parfois, à l'étouffement des faisceaux de Hiss par la sclérose sous-endocardique. La fibroélastose aurait donc à son origine un processus inflammatoire, de nature probablement infectieuse.

Des recherches furent entreprises par l'école strasbourgeoise pour déceler un agent étiologique. Toutes les investigations bactériologiques se révélèrent négatives. Par contre, sur 28 cas de fibroélastose étudiés, 14 fois un virus fut isolé à partir d'un prélèvement d'organe dont 13 *virus Coxsackie B* (surtout B_3) et un adénovirus. Le virus fut retrouvé par ordre de fréquence décroissante le plus souvent dans le myocarde et les muscles striés, puis dans les poumons, les ganglions, la rate, mais jamais dans le cerveau ni le foie. Ceci traduit donc une diffusion comparable à celle décrite dans la myocardite à Coxsackie du nouveau-né. Cette étiologie virale n'étonne pas, compte tenu du tropisme cardiaque marqué des virus Coxsackie B, tant chez le souriceau qu'en pathologie humaine. Mais un autre argument, de nature épidémiologique, plaide également en sa faveur : les cas de fibro-élastose surviennent souvent au cours d'épidémies de méningites aseptiques ou d'états pseudo-grippaux dus à ces virus.

Ainsi, la fibro-élastose pourrait s'intégrer dans le cadre des pancardites infectieuses de nature virale, au cours d'infections généralisées à virus Coxsackie B. La myocardite représenterait la lésion primitive. Elle serait parfois rapidement mortelle, et c'est alors le diagnostic de myocardite aiguë qui serait posé. Elle pourrait également guérir complètement ou évoluer vers la chronicité. Dans ce dernier cas, la persistance de l'inflammation et l'évolution vers la sclérose permettraient la constitution progressive de la fibro-élastose endocardique. Le virus a pu être isolé à tous les stades d'évolution. Sa persistance serait expliquée par un état de tolérance immunologique.

Cette conception uniciste, séduisante, n'est pas universellement admise. Pour de nombreux auteurs, la fibro-élastose de l'endocarde reste un état malformatif. Son association possible avec d'autres malformations, cardiaques ou non, sa constatation exceptionnelle après la petite enfance, plaident en faveur de cette dernière hypothèse. D'autres travaux seront nécessaires pour confirmer et préciser l'étio-pathogénie de cette affection.

III. — Les péricardites aiguës bénignes

La responsabilité des virus Coxsackie B dans certaines péricardites aiguës a été démontrée par leur isolement à plusieurs reprises à partir du liquide de ponction péricardique (299 - 406 - 484).

Elles furent tout d'abord décrites comme complications de la maladie de Bornholm. Bacher (283) fut le premier, en 1896, à signaler une

péricardite au cours d'une pleurodynie. En 1933, plusieurs cas sont rapportés par Bing (290), Hecksher (381) et Dalsgaard (329). Cette complication est reconnue par Sylvest (511) en 1934. Depuis, elle a été associée à plusieurs reprises à la maladie (284 - 288 - 352 - 484 - 493).

Une atteinte du péricarde peut également accompagner certaines myocardites aiguës du nouveau-né (344 - 398) et de l'adulte (278 - 457). Elle est généralement discrète et ne peut masquer les signes d'insuffisance myocardique.

Mais des péricardites isolées, sans aucune manifestation de myalgies ni de myocardite ont également été observées chez des sujets infectés par un virus Coxsackie B (368 - 373 - 382 - 440 - 537). Elles peuvent survenir par cas sporadiques ou par petites épidémies souvent intriquées avec des cas de pleurodynie ou de méningite aseptique.

Elles frappent les enfants et les adultes. Une observation concerne un nourrisson de 10 mois (406), une autre un malade de 70 ans (382).

D'après les différentes publications relevées dans la littérature, elles ont été très fréquemment associées au virus Coxsackie B_5 (284 - 293 - 368 - 373 - 440 - 457 - 537), moins souvent aux sérotypes B_2 (304 - 484 - 495), B_3 (288 - 352 - 406 - 455) et B_4 (299 - 352), rarement au type B_1 (278).

— *Aspect clinique.*

C'est habituellement le tableau classique d'une péricardite peu sévère, sans grand épanchement. Il ne présente aucune particularité qui puisse orienter le diagnostic étiologique. Nous le décrirons brièvement.

C'est souvent une à deux semaines après un épisode infectieux initial (état fébrile - angine - syndrome pseudo-grippal) ou une attaque de pleurodynie qu'apparaissent les premiers signes cliniques de la péricardite.

On observe une élévation de la température à 38° - 39° et l'apparition d'une douleur plus ou moins marquée, localisée au niveau de l'aire précordiale et intensifiée par la toux, les changements de position et les mouvements respiratoires. Elle peut entraîner de la dyspnée, soulagée en position assise, et parfois accompagnée de cyanose.

A l'auscultation, les bruits du cœur peuvent être légèrement assourdis. Le rythme cardiaque est habituellement normal, mais une légère tachycardie peut être observée (368). Le signe physique majeur est un frottement péricardique, plus ou moins intense, perçu au niveau de toute l'aire précordiale. Il est parfois accompagné d'un souffle systolique (284 - 288 - 368) ou d'un frottement pleural (284 - 368).

La percussion peut mettre en évidence une augmentation de l'aire de matité cardiaque. A la radioscopie on découvre une silhouette cardiaque plus ou moins élargie suivant l'importance du liquide, peu mobile, et parfois un léger épanchement pleural uni — ou bilatéral (284 - 299 - 484).

A l'E.C.G., les 4 stades évolutifs classiques de Holzmann sont rarement mentionnés. Certains auteurs cependant notent une surélévation du segment ST - T suivi d'une négativation des ondes T avant la normalisation du tracé (295 - 368). Le plus souvent seules les ondes T négatives sont signalées dans les dérivations périphériques (en D_3 ou en D_2 - D_3 ou D_1 - D_2, ainsi qu'en aVL. La négativation n'est généralement pas concordante en D_1, D_2 et D_3) et dans les dérivations précordiales (de V_3 à V_6, rarement de V_1 à V_6). Le bas voltage des complexes Q R S est rarement décrit (299). Le caractère essentiel de ces troubles est leur régression rapide au fur et à mesure que l'infection évolue vers la guérison.

La ponction du péricarde permet de recueillir un liquide peu abondant, séro-fibrineux, souvent hémorragique (284 - 299 - 484), dont la culture est stérile.

Les examens de laboratoire sont sans particularité, à part une V.S. légèrement accélérée et une discrète leucocytose sanguine.

Parfois l'atteinte est plus sévère (284 - 299 - 484). Elle peut s'accompagner d'un épanchement abondant entraînant des signes de défaillance cardiaque (dyspnée, gros cœur non battant, turgescence jugulaire, hépatomégalie, reflux hépato-jugulaire, œdème des membres inférieurs) et nécessitant une ponction évacuatrice.

Mais *l'évolution* est toujours favorable, quelle que soit la gravité initiale du tableau clinique. La guérison peut survenir rapidement avec chute de la température et disparition du frottement en 2 à 7 jours, mais dans certaines observations celui-ci était encore perçu 2 mois après le début de la maladie (295 - 368). La cardiomégalie et les anomalies de l'E.C.G. peuvent persister 3 à 6 semaines. Parfois une rechute survient après une période d'apparente guérison (295). D'après Gillett (368), le repos absolu au lit raccourcirait l'évolution.

La guérison est habituellement totale et sans séquelles. Bain (284) rapporte cependant un cas de péricardite constrictive chez un garçon de 13 ans, qui avait présenté l'année précédente une pleurodynie compliquée de péricardite dont l'étiologie Coxsackie B_5 avait été prouvée par l'isolement du virus et par l'étude sérologique. Ainsi, il est possible que certaines péricardites chroniques constrictives soient des séquelles de péricardite aiguë d'origine virale.

CONCLUSION

Les virus Coxsackie B (B_1 à B_5) sont responsables de myocardites aiguës. Plus fréquentes et plus graves chez les enfants nouveau-nés, elles s'accompagnent fréquemment chez eux de multiples lésions viscérales. L'évolution est souvent mortelle et l'examen anatomo-pathologique permet de confirmer la généralisation de l'infection. Le virus a pu être isolé au niveau de nombreux organes : myocarde, système nerveux, foie, pancréas, poumons, rate, reins. Plusieurs cas ont également été décrits chez l'enfant plus âgé et l'adulte. Moins sévères, ils évoluent habituellement vers la guérison. Nous avons observé, à Nancy, 2 cas de myocardite aiguë chez des nourrissons de 1 an et 2 ans et demi, attribués respectivement aux sérotypes B_2 et B_5. Les virus Coxsackie B ont également été associés à des péricardites aiguës bénignes. Leur rôle possible dans l'étiopathogénie de la fibro-élastose de l'endocarde a été évoqué, récemment, à la faveur d'arguments anatomo-pathologiques, virologiques et épidémiologiques. Mais cette conception récente n'est pas encore admise par tous les auteurs. Le problème reste posé et mérite d'autres recherches.

CHAPITRE III

LES INFECTIONS DU SYSTÈME NERVEUX

L'affinité neurotrope des virus Coxsackie B peut se traduire sur le plan clinique par des syndromes variés. La méningite abactérienne en représente la manifestation la plus fréquente. Mais ces virus peuvent également être associés à une atteinte encéphalitique focale ou diffuse, ainsi qu'à des lésions médullaires responsables de paralysies diverses.

I. — Méningites abactériennes

Sous ce nom on décrit un syndrome infectieux aigu fréquemment rencontré, surtout chez les enfants. Il comporte de la fièvre, des signes cliniques de méningite (céphalées - raideur de nuque - vomissements), une pléiocytose rachidienne à prédominance lymphocytaire et évolue habituellement vers une guérison complète. Les différentes dénominations proposées : méningite séreuse, méningite bénigne à liquide clair, méningite aseptique, méningite lymphocytaire curable en rappellent les principales caractéristiques.

Les progrès récents de la Virologie ont montré que ce syndrome clinique pouvait être provoqué par de très nombreux virus. Il est, en particulier, fréquemment rencontré au cours des infections à Entérovirus.

L'association d'une atteinte méningée à la maladie de Bornholm ainsi que l'intrication fréquente de cas de méningites aseptiques et de pleurodynies au cours de certaines épidémies ont permis de suspecter depuis longtemps le rôle étiologique des virus Coxsackie B dans certaines méningites abactériennes aiguës. L'apparition d'un tel syndrome à la

suite de contaminations accidentelles de laboratoire (491) et l'isolement du virus à partir de la gorge, des selles et mieux du liquide céphalo-rachidien (357) des malades, joints à une ascension des anticorps sériques homologues ont permis de confirmer cette opinion.

La fréquence de l'étiologie Coxsackie dans le cadre général des méningites abactériennes semble relativement importante. D'après HABEL (cité par GRENIER, 94) les virus Coxsackie seraient la cause de 29 % des cas de méningite lymphocytaire dont 24 % dus aux virus Coxsackie du groupe B. alors que les poliovirus revendiquent 33 % de ces méningites. Les statistiques de LEPOW et coll. (422) portant sur l'étude de 407 malades pendant une période de 3 ans (de 1955 à 1958) ont permis d'établir une étiologie virale dans 50 % des cas, les virus Coxsackie représentant 19 à 32 % des virus isolés. Plus récemment SURJUS (250), à la suite d'un travail de 6 ans portant sur 1.157 cas cliniques de méningite aseptique ou de méningo-encéphalite rapporte l'isolement d'un virus dans 37,5 % des cas, avec une répartition de 15,4 % pour les virus poliomyélitiques, 11,4 % pour les virus Coxsackie B (B_1, B_2, B_3, B_4), 3,5 % pour les virus E.C.H.O. et 4,5 % pour les virus ourliens.

Si certains virus Coxsackie A, en particulier A_9 et A_{23} (279), ont pu être isolés chez des malades et même à partir du L.C.R. (287), ce sont les virus du groupe B qui sont le plus fréquemment en cause. Des cas sporadiques ont été associés aux types B_1 (340 - 422), B_2 (279 - 422 - 492 - 502), B_3 (279 - 358), B_4 (502 - 422) et B_5 (340 - 422 - 502). Les épidémies sont plus fréquemment rencontrées avec les sérotypes B_2 (393 - 444 - 482), B_3 (402 - 404) et surtout B_5 (284 - 310 - 321 - 377 - 455 bis - 477 - 482 - 512).

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Nous avons eu l'occasion d'observer *une petite épidémie* (4 *cas*) *de méningites lymphocytaires* survenue dans une pouponnière vers la fin du mois de septembre 1960. Cette étude a déjà fait l'objet d'une publication antérieure (416). Parmi les malades, deux nourrissons de 13 mois (cas 3) et de 18 mois (cas 1), une élève puéricultrice de 23 ans (cas 2) et une aide-soignante de 17 ans (cas 4) qui s'étaient occupées des enfants.

La survenue de 2 cas d'oreillons typiques chez des puéricultrices peu de temps auparavant avait tout d'abord orienté l'enquête vers une étiologie ourlienne. Mais les données virologiques et sérologiques ont permis de mettre en évidence la responsabilité du *virus Coxsackie* B_5.

Les faits cliniques et les résultats des différents examens biologiques figurent dans un tableau récapitulatif.

Le virus fut isolé sur culture de rein de singe (Cynocephalus babuin) de première explantation, dès le 1er passage, à partir du L.C.R., du prélèvement de gorge et des selles du cas n° 4 et à deux reprises à partir des matières fécales du cas n° 3.

Une étude sérologique a été réalisée chez 3 malades et a permis de mettre en évidence la présence d'anticorps neutralisants homologues. Dans le cas n° 2, les sérums précoce et tardif neutralisaient le virus à la même dilution de 1/32. Par contre, une ascension du taux de ces anticorps a été observée dans le cas n° 3 (de 1/256 à 1/512) et dans le cas n° 4 (de 1/32 à 1/64).

Bien que les données virologiques et sérologiques ne soient pas toujours suffisantes pour affirmer l'étiologie Coxsackie B_5 (cas n° 1 et 2), le contexte épidémiologique et l'aspect clinique plaident cependant dans ce sens.

Ainsi dans le cas n° 2, si les résultats biologiques (absence d'isolement du virus — taux peu élevé d'anticorps neutralisants spécifiques sans ascension entre les 2 sérums) sont nettement insuffisants pour poser un diagnostic, l'attaque typique de pleurodynie qui a précédé l'apparition du syndrome méningé est assez évocatrice.

Dans le cas n° 1, il n'y a aucune preuve virologique (échec des tentatives d'isolement et absence d'étude sérologique). De plus, la présence d'anticorps pour le seul poliovirus type III peut permettre d'envisager une étiologie poliomyélitique. Bien que cette dernière hypothèse ne puisse être complètement éliminée, plusieurs arguments témoignent en faveur du virus Coxsackie B_5. En effet, les anticorps poliomyélitiques n'apparaissent habituellement que tardivement dans le sérum. Leur présence, dès le début de la méningite, prouverait plutôt une infection antérieure inapparente, d'autant plus probable qu'une épidémie poliomyélitique de type III a sévi peu avant dans la région. De plus, il est admis qu'il existe une interférence entre les virus Coxsackie B et les poliovirus, non seulement en culture de tissu et chez le souriceau, mais aussi sur le plan épidémiologique. Enfin la notion de contage (l'enfant ayant été soigné par les 2 puéricultrices malades) est également en faveur de cette étiologie.

Dans les deux autres observations (cas n° 3 et 4), l'étiologie ne fait aucun doute.

A la suite de cette discussion, il nous semble possible d'attribuer, avec une grande probabilité, la responsabilité de cette épidémie de méningites lymphocytaires au virus Coxsackie B_5.

Depuis 1958, nous avons également isolé à plusieurs reprises des virus Coxsackie B à partir des selles ou des prélèvements de gorge de malades (cas sporadiques) atteints de méningite abactérienne confirmée par l'examen cytochimique du L.C.R. Malheureusement, aucune étude sérologique n'ayant été réalisée, il ne nous est pas possible de poser un diagnostic étiologique affirmatif. Cependant l'absence de tous autres résultats positifs, ainsi que les données cliniques, en particulier la présence fréquente de violentes myalgies thoraciques ou dorsales permettent de suspecter la responsabilité du virus isolé.

Nous avons eu l'occasion d'isoler ainsi 3 fois un virus Coxsackie B non typé, 2 fois un sérotype B_5 et une fois un type B_2.

Le tableau clinique :

INCUBATION

Selon Rubin et coll. (477) la période d'incubation serait de 3 à 5 jours.

PRODROMES

La méningite est souvent précédée par une phase prodromique de durée variable (2 à 15 jours). Celle-ci débute habituellement par l'apparition de fièvre (38° à 40°) souvent associée à des maux de gorge, des céphalées, des douleurs musculaires ou des signes digestifs. L'évolution est parfois diphasique (502). Ces symptômes peuvent céder rapidement pour réapparaître au bout de quelques jours, accompagnés ou non du syndrome méningé. Mais celui-ci peut également se manifester brutalement, sans prodromes.

Chez deux de nos malades, il est apparu 7 jours après un épisode fébrile associé à une rhinopharyngite chez l'un (cas n° 3) et à une angine rouge non vésiculeuse chez l'autre (cas n° 1). Dans le cas n° 2, il fut précédé pendant 9 jours de manifestations de pleurodynie avec fièvre, asthénie, anorexie et douleurs intenses localisées au niveau de la jonction thoraco-abdominale. Par contre il fut la première manifestation clinique dans le cas n° 4.

A LA PÉRIODE D'ÉTAT

La fièvre est presque constante. Elle peut être élevée, atteignant 39°-40°, mais elle est parfois plus discrète, ne dépassant guère 37°5-38°. Elle peut durer de 1 à 15 jours, mais elle cède le plus souvent en 3 à 4 jours. Elle présente parfois une courbe irrégulière, à évolution di ou triphasique. Chez tous nos malades elle fut élevée (38°5-39°5) et disparut rapidement, sauf chez le nourrisson de 13 mois qui présenta un état subfébrile à 38° pendant 15 jours.

Le syndrome méningé peut se traduire par des céphalées, une raideur de nuque, parfois des vomissements. Mais il est souvent discret et incomplet.

Frontales, occipitales ou diffuses, *les céphalées* en représentent le symptôme le plus constant. Elles sont généralement intenses et peuvent s'exacerber en paroxysmes diurnes et nocturnes. Elles s'accompagnent parfois de photophobie (477 - 482).

Les vomissements ont été décrits surtout au début de l'affection (477 -

NOM - AGE Date d'hospitalisation	PRODROMES	ATTEINTE MOTRICE	L. C. R.				VIROLOGIE			
			Date	Cellules	Alb.	Sucre	Virus isolé : Coxsackie B_5	Anticorps neutralisants Coxsackie B_5	Anticorps polio	Fixation du complément adénovirus - oreillons ornithose - psittachose
P... Alain 18 mois 28.9.60	Angine rouge diarrhée	—	29.9 4.10 10.10 3.12	500 110 16 3	0,84 0,40 0,33 0,15	0,85 0,59 0,57 0,55	selles = 0 gorge = 0 L C R = 0		le 30.9 : — — + le 5.12 : — — +	Négatives
G... Monique 23 ans 29.9.60	Pleurodynie	—	29.9 5.10 27.10	200 40 0.8	0,31 0,31 0,19	0.64 0,54 0,54		le 6.10 : 1/32 le 25.10 : 1/32	le 6.10 : + + +	Négatives
T... J.-Claude 13 mois 9.10.60	Rhinopharyngite	—	7.10 10.10 14.10 27.10	450 50 4 5	0,15 0,38 0,25 0,16	0,50 0,50 0,64 0,62	selles du 10.10 et du 21.10 : + L C R = 0	le 10.10 : 1/256 le 4.11 : 1/512	le 7.10 : — — — le 15.12 : — — —	Négatives
V... Monique 17 ans 14.10.60		Abolition des réflexes ostéo-tendineux transitoire (2 jours)	14.10 18.10 3.11	550 34 0,6	0,29 0,37 0,31	0,63 0,58 0,51	L C R du 14.10 : + gorge du 14.10 : + selles du 18.10 : +	le 16.10 : 1/32 le 3.11 : 1/64	le 15.10 : + + +	Oreillons : sérum : 1/80 L.C.R. : 0

482). Ils sont habituellement modérés et cèdent rapidement (cas n° 1, 2 et 4). Ils peuvent être absents (cas n° 3) ou remplacés par des nausées. Des vomissements abondants, accompagnés de cétose ont cependant été rapportés chez de jeunes enfants (482).

A l'examen physique, les signes méningés sont le plus souvent discrets et fugaces, réduits à une légère raideur de nuque, parfois accompagnée d'une hyperesthésie cutanée (482). Les signes de Kernig et de Brudzinski sont plus rares. Ils manquaient chez 3 de nos malades.

L'étude cytochimique du liquide céphalo-rachidien permet de poser le diagnostic de méningite lymphocytaire. Le liquide est clair ou légèrement trouble suivant l'intensité de la pléiocytose. Selon les observations, celle-ci varie habituellement de 10 à 1.000 éléments par mm3, mais elle est parfois plus élevée atteignant 2.000 à 2.500 cellules/mm3 (284 - 422). Dans nos cas personnels, elle s'est tenue entre 200 à 500 cellules par mm3. L'image cytologique peut être bigarrée. Au début de la maladie on observe une polynucléose, puis les lymphocytes prédominent au taux de 80 à 95 %.

Devant une forte polynucléose initiale, le diagnostic de méningite bactérienne peut se poser, mais l'intégrité des polynucléaires permet de l'éliminer. L'albuminorachie est normale ou légèrement augmentée, sans rapport avec l'intensité de l'hypercytose. Le taux du sucre et des chlorures est normal.

L'état général est plus ou moins atteint, suivant l'importance des signes méningés. L'asthénie est parfois marquée, accompagnée d'anorexie, de vertiges, de lipothymies (482). La constipation est fréquente. Elle a été observée chez 66 des 93 malades étudiés par Sacrez et coll. (482). La diarrhée serait plus rare (cas n° 1).

Les examens biologiques sont habituellement négatifs. Dans toutes nos observations, l'hémogramme n'a pas montré d'anomalies caractéristiques, mise à part une légère leucocytose. La V.S. était normale ou légèrement accélérée.

D'autres symptômes peuvent accompagner les signes méningés, mais en l'absence d'épidémie, ils n'ont que peu de valeur pour orienter le diagnostic étiologique.

Des douleurs musculaires sont fréquemment signalées. Rubin et coll. (477) les ont observées dans le tiers des cas. Elles peuvent être présentes avant la méningite et persister plusieurs jours. Discrètes ou intenses, elles sont localisées au niveau de l'abdomen, des membres, parfois à la base

du thorax, évoquant la pleurodynie. Mais de telles douleurs sont également observées au cours de certaines méningites poliomyélitiques ou à virus E.C.H.O. (surtout E.C.H.O.6 et 9). Récemment AJJAN et coll. (279) ont décrit des douleurs articulaires localisées au niveau des poignets, des genoux et des épaules.

Une conjonctivite (502), plus fréquemment *une pharyngite érythémateuse* (422 - 477 - 482) peuvent accompagner la méningite.

L'association avec *un exanthème* a été signalée chez l'enfant, plus rarement chez l'adulte (279 - 308 - 502). Cet exanthème, de type maculaire, ne diffère guère de ceux provoqués par d'autres virus, notamment par les virus E.C.H.O.

L'examen neurologique est habituellement négatif. Les réflexes ostéotendineux et cutanés sont normaux. On n'observe ni troubles de la sensibilité, ni paralysies. Cependant quelques signes neurologiques ont été décrits dans certaines observations. Ils se limitent en général à une simple somnolence, parfois entrecoupée de crises d'agitation chez l'enfant (482). Des vertiges ont également été signalés (279). Les tracés électro-encéphalographiques ne montrent habituellement pas de perturbations, en dehors d'un léger ralentissement de l'activité basale (482). Mais la méningite peut également accompagner une atteinte encéphalitique sévère ou des paralysies pseudo-poliomyélitiques que nous étudierons plus loin.

Dans toutes nos observations, l'examen neurologique était normal, sauf dans le cas n° 4, où nous avons constaté une abolition transitoire des réflexes des membres supérieurs et inférieurs, qui sont réapparus au bout de 2 jours.

Enfin, comme nous l'avons vu précédemment, au cours de l'infection généralisée du nouveau-né, le syndrome méningé accompagne fréquemment non seulement une encéphalomyélite, mais également des signes de myocardite aiguë et d'atteinte hépatique.

ÉVOLUTION

Lorsque la méningite est isolée, sans autres manifestations viscérales, l'évolution est habituellement rapidement favorable. Température et céphalées disparaissent en 1 à 3 jours. La formule cytochimique du L.C.R. se normalise en 10 à 15 jours.

Parfois la maladie évolue en plusieurs poussées séparées par des phases d'accalmie (502). Ces rechutes peuvent se traduire par la réapparition du syndrome méningé, sans accentuation de la pléiocytose. Mais

inversement, une hypercytose rachidienne peut apparaître sans signes cliniques associés. Dans ces formes à rechutes, l'évolution est prolongée : asthénie, anorexie peuvent persister plusieurs semaines. La guérison se fait ordinairement sans séquelles.

Ainsi, rien dans le tableau clinique de la méningite ne permet d'orienter le diagnostic étiologique. Celui-ci reposera donc sur le contexte épidémiologique et sur les données du laboratoire (isolement du virus et ascension des anticorps spécifiques). Le virus a pu être isolé à partir de la gorge et des selles des malades, mais aussi fréquemment à partir du L.C.R. au cours de la première semaine de la maladie (311 - 331 - 342 - 422 - 455 bis - 469 - 482). On l'a mis en évidence dans le sang (492 - 520) 5 jours avant le début du syndrome méningé — ce qui permet d'envisager le rôle de la virémie dans la pathogénie de la méningite — ainsi que dans les urines (520).

II. — Encéphalites et méningo-encéphalites

L'affinité neurotrope des virus Coxsackie B ne se limite pas aux méninges. Ils peuvent également déterminer des lésions variées de l'axe cérébro-spinal, en particulier une atteinte encéphalitique focale ou diffuse, dont la gravité semble en relation avec l'âge.

A. — CHEZ LE NOUVEAU-NÉ ET LE NOURRISSON

Le pronostic est habituellement sévère et l'évolution rapidement fatale. Nous avons déjà signalé antérieurement la fréquence de la méningo-encéphalite (et souvent méningo-encéphalomyélite) au cours de l'infection Coxsackie B du nouveau-né. Chez celui-ci elle est généralement associée à des signes de myocardite aiguë ou d'hépatite. Nous avons également relevé dans la littérature 2 cas mortels chez des enfants de 13 mois (468) et un cas non fatal, mais sévère, chez un nourrisson de 3 mois qui a conservé des séquelles cérébrales irréversibles (415 - 506).

L'atteinte encéphalitique peut se traduire cliniquement par des vomissements, de l'agitation, des contractions toniques et cloniques localisées (506) ou généralisées (468), parfois par de la somnolence et même un état comateux (468).

Des troubles du tonus — hypotonie (282) ou hypertonie et contracture (415 - 506) — des modifications des réflexes ostéo-tendineux ou

archaïques (282 - 410), un nystagmus (432 - 468) ou une paresse pupillaire (506) ont également été décrits.

L'examen anatomo-pathologique permet de mettre en évidence des lésions inflammatoires et dégénératives qui peuvent siéger à différents étages de l'axe cérébro-spinal. Nous les avons déjà décrites.

Ces méningo-encéphalites du nouveau-né et du nourrisson ont été associées essentiellement aux types B_3 (282 - 338 - 409 - 453 - 525), B_4 (344 - 452 - 456 - 489 - 539), plus rarement B_5 (438).

Le virus a pu être isolé à plusieurs reprises à partir du L.C.R. (282 - 468), du cerveau (338 - 344 - 398 - 410 - 432 - 456 - 467) et de la moelle (409 - 468).

B. — CHEZ L'ENFANT PLUS AGÉ ET L'ADULTE

L'atteinte encéphalitique est moins fréquente et, même lorsqu'elle est sévère, elle évolue habituellement vers la guérison sans séquelles.

Un certain nombre d'observations rapportent la présence de *signes neurologiques au cours de la maladie de Bornholm.* Le plus souvent ils se limitent à des vertiges (447), des paresthésies (447) ou des convulsions chez l'enfant (389). D'autres manifestations ont été plus rarement signalées : tableau de méningo-encéphalite avec choréo-athétose (446), phénomènes extra-pyramidaux avec hallucinose pédonculaire (303), chorée fibrillaire de Morvan avec fibrillations musculaires, algies et œdème (335).

Des méningo-encéphalites diffuses ont été décrites à plusieurs reprises.

Nous n'avons relevé dans la littérature que *deux petites épidémies*, toutes deux en rapport avec un virus Coxsackie B_3 :

— Stanley et coll. (498) décrivent une épidémie d'encéphalite à Sydney (Australie) qui débuta en janvier 1951. Vingt-deux malades de 8 à 35 ans ont été étudiés. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir des selles de 11 de ceux-ci. Tous possédaient des anticorps neutralisants spécifiques.

— Surjus et coll. (506) et Lausecker (415) ont observé 3 cas d'encéphalite chez des enfants au cours d'une petite épidémie d'infections à Coxsackie B_3 qui se manifesta dans la région de Colmar en 1961.

Chez une fillette de 8 ans, la symptomatologie fut dominée par une cachexie importante et un tableau psychiatrique évoquant la démence.

L'E.E.G. montrait des altérations diffuses, prédominantes à droite. Malgré la sévérité des manifestations cliniques la récupération fut totale. La nature virale de l'affection fut démontrée par l'isolement d'un virus Coxsackie B dans les selles et le prélèvement pharyngé et par une ascension des anticorps spécifiques qui, absents au 15e jour de l'affection, étaient présents au taux de 1/1.000 six semaines plus tard.

Une méningo-encéphalite caractérisée par un état comateux avec hypertonie est également décrite chez un enfant de 20 mois. L'évolution fut rapidement favorable avec récupération totale en 5 semaines. Aucun virus ne fut isolé dans les selles et le L.C.R., mais le sérum neutralisait le virus Coxsackie B au taux de 1/100 au bout de un mois et de 1/1.000, 12 jours plus tard.

La troisième observation concerne un nourrisson de 3 mois dont la méningo-encéphalite, plus grave, évolua vers un état de décérébration totale et définitive. L'étude sérologique démontra l'infection Coxsackie B.

Plusieurs cas sporadiques ont également été rapportés :

— Walker et Togo (530) : Méningo-encéphalite grave chez un enfant de 9 ans. Isolement d'un virus Coxsackie B_5 à partir des selles et du L.C.R. Ascension du taux des anticorps neutralisants homologues de 1/40 à 1/640. La maladie a guéri sans séquelles en 2 semaines.

— Jarcho et coll. (397) : Méningo-encéphalite sévère chez un jeune homme de 20 ans. La maladie présenta une évolution diphasique. Le tableau clinique fut particulièrement riche, associant des troubles neurologiques et psychiques. Les principales manifestations furent, outre la fièvre et un syndrome méningé, des convulsions avec mouvements cloniques généralisés, perte de la conscience, hyperréflectivité, puis abolition des réflexes ostéo-tendineux, Babinski gauche en extension, mydriase paralytique unilatérale. Des signes de décérébration et des troubles de la sensibilité furent également observés. L'E.E.G. révéla des troubles diffus, paroxystiques, sans signes de focalisation. Malgré la sévérité de l'atteinte, le sujet a quitté l'hôpital 5 semaines plus tard, pratiquement guéri, avec un tracé électrique normal et sans séquelles neurologiques, ni psychiques. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé à partir des selles prélevées au 3e jour de la maladie, et l'on nota l'apparition, puis l'ascension d'anticorps neutralisants spécifiques dans le sérum.

— Stern et coll. (502) ont décrit chez un médecin de 38 ans un cas de méningoencéphalite dont les manifestations furent particulièrement variées. Les premiers signes cliniques de la maladie furent de la fièvre et de l'anorexie qui disparurent au bout de 5 jours pour réapparaître une semaine plus tard, accompagnées de céphalées et suivies d'un

syndrome méningé et de signes de désorientation mentale avec amnésie complète. Ces troubles mentaux persistèrent 6 jours, puis cessèrent brusquement. On nota alors une paralysie faciale qui disparut après quelques jours, mais fut suivie de l'apparition de paresthésies au niveau des membres inférieurs et supérieurs pendant 8 semaines. Un virus Coxsackie B_2 fut isolé à partir des selles et l'on observa une élévation des anticorps neutralisants anti-B_2 de 1/15 à 1/2.000.

Ces auteurs rapportent également des manifestations de somnolence, convulsions, insomnies accompagnées de fièvre chez deux sœurs âgées respectivement de 1 an et 2 ans. Cette dernière a guéri au bout de 24 heures, sa sœur au bout de 3 jours. Un virus Coxsackie B_4 fut isolé à partir des selles des 2 enfants et l'étude sérologique mit en évidence une ascension des anticorps neutralisants homologues.

Ainsi, ce qui semble caractériser les encéphalites à virus Coxsackie B de l'enfant et de l'adulte, c'est leur évolution habituelle vers la guérison complète, malgré des signes neurologiques souvent sévères.

Un cas mortel a cependant été décrit par Arendt et Bohm (280) chez un enfant de 12 ans. Un virus Coxsackie B_4 a pu être isolé du cerveau post-mortem. L'étude histologique a permis de mettre en évidence des lésions cérébrales diffuses mais atteignant presque exclusivement la substance blanche. La moelle n'était pas lésée.

Des complications ont également été décrites. Walters (532) signale l'apparition d'un syndrome de Parkinson typique chez une femme de 54 ans, qui avait présenté 3 mois auparavant une méningo-encéphalite due au virus Coxsackie B_2, traduite cliniquement par de la fièvre, un syndrome méningé, des épisodes de léthargie alternant avec des crises d'agitation accompagnées d'anxiété, d'insomnies et de douleurs généralisées. Le virus fut isolé à partir des selles à la période aiguë de la maladie et une ascension des anticorps neutralisants spécifiques (de 1/256 à 1/512) fut décelée dans le sérum.

Nous n'avons relevé qu'un cas d'ataxie cérébelleuse aiguë (Martineau, 446). A la suite d'un épisode fébrile survenu 15 jours auparavant, on vit apparaître, chez un enfant de 2 ans et demi, des tremblements involontaires des membres et de la tête, avec difficulté à la marche. L'enfant était irritable et ne tenait plus sur ses jambes. Le L.C.R. était normal, ainsi que l'E.E.G. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé dans les selles, et dans le sérum on mit en évidence des anticorps neutralisants homologues au taux de 1/178, mais pas d'anticorps poliomyélitiques. L'enfant récupéra complètement.

Un virus Coxsackie B a été également associé à deux reprises à *un syndrome d'hypertension intra-crânienne.* Dès 1954 Parodi (459) observa, au cours d'une épidémie de poliomyélite en Argentine, plusieurs cas d'hypertension intra-crânienne avec œdème papillaire simulant des tumeurs cérébrales. Un virus déterminant chez le souriceau nouveau-né des lésions caractéristiques des virus du groupe B fut isolé à partir des selles et du L.C.R. d'un malade. Le sérum qui n'avait pas de pouvoir protecteur à la phase aiguë de la maladie se montra capable de protéger le souriceau à la dilution de 1/10 à la phase de convalescence.

Plus récemment, un virus Coxsackie B_4 a été isolé au cours d'un syndrome d'hypertension intra-crânienne curable (Wooley, 546).

III. — Paralysies pseudo-poliomyélitiques

Des paralysies de type poliomyélitique ont été observées à plusieurs reprises au cours de l'infection par certains virus Coxsackie et E.C.H.O. Mais elles semblent relativement peu fréquentes et les virus poliomyélitiques restent toujours, et de loin, la cause essentielle de la paralysie infantile.

La fréquence de l'association d'un déficit moteur avec une infection Coxsackie varie, selon les auteurs, de 5 % (420) à 19 % (502). Il semble cependant que les manifestations paralytiques dues aux entérovirus non poliomyélitiques soient actuellement en augmentation, peut-être en raison de l'extension de la vaccination antipoliomyélitique. Selon Giovanardi et coll. (371) leur fréquence serait en effet plus élevée chez les vaccinés avec 3 doses de vaccin Salk que parmi les non vaccinés, ou même ceux qui ont reçu seulement 1 ou 2 doses.

En raison de l'association possible de plusieurs entérovirus chez le même sujet, l'attribution d'un accident paralytique ou parétique à un virus Coxsackie devra reposer sur des critères de diagnostic rigoureux. Il est nécessaire de prouver non seulement une infection simultanée par le virus (isolement du virus et mise en évidence d'un taux croissant d'anticorps spécifiques), mais aussi l'absence de virus poliomyélitique. En réalité, l'association d'un poliovirus et d'un virus Coxsackie B chez un même sujet semble très rare en raison de l'interférence qui existe entre ces deux virus, et qui a été démontrée non seulement en culture de tissu et chez le souriceau, mais aussi sur le plan épidémiologique.

Nous avons relevé dans la littérature un certain nombre d'observations

qui répondent à ces critères et qui permettent d'affirmer le rôle des virus Coxsackie B (B_2, B_3, B_4 et B_5) dans la genèse de certaines paralysies.

— Steigman (237) : paralysie du muscle deltoïde droit et de certains muscles abdominaux chez un enfant de 6 ans. Isolement du virus Coxsackie B_5 et ascension des anticorps sériques homologues. Absence de virus poliomyélitiques. Pas de modification du titre des anticorps antipoliomyélitiques. Une atrophie résiduelle du muscle deltoïde a persisté pendant 15 mois.

— Hammon et coll. (107) : 3 cas de maladie paralytique :

Chez un enfant de 4 ans : isolement d'un virus Coxsackie B_4 dans les selles. Les anticorps neutralisants correspondants sont absents au début de la maladie, mais ils sont présents aux taux de 1/4 et de 1/32, 5 et 9 semaines plus tard. Présence d'anticorps poliomyélitiques de types I et III mais sans modifications de taux.

Chez une fillette de 2 ans : isolement d'un virus Coxsackie B_3 et ascension des anticorps homologues. Pas d'infection poliomyélitique contemporaine.

Un 3e cas en liaison avec un virus Coxsackie A_9 est également rapporté.

— Johnson et coll. (400) : Au cours d'une épidémie d'infections du système nerveux due à plusieurs entérovirus (Coxsackie, E.C.H.O. et poliovirus) à Hawaï, au printemps et en été 1958, 2 enfants furent hospitalisés pour « poliomyélite paralytique ».

Le premier, âgé de 1 mois, fut admis pour syndrome méningé avec pléiocytose rachidienne. Au 4e jour de la maladie, apparition d'une paralysie faciale droite et d'une abolition des réflexes abdominaux superficiels. Ceux-ci réapparurent le 12e jour, mais la paralysie faciale persista plus longtemps. Un virus Coxsackie B_2 fut isolé à partir des selles, de la gorge et du L.C.R. Les anticorps neutralisants homlogues, absents au début de la maladie, furent trouvés le 22e jour au titre de 1/40.

Le deuxième, âgé de 6 mois, fut également admis pour méningite. Le 3e jour de la maladie, lors de la défervescence, on nota une parésie, puis une paralysie du bras droit et de l'épaule droite qui disparut progressivement au cours des 4 jours suivants. Un virus Coxsackie B_2 fut isolé à partir des selles et du L.C.R. avec ascension des anticorps neutralisants correspondants de 1/20 à 1/80.

Dans les deux cas aucun virus poliomyélitique ne fut isolé et l'absence d'anticorps poliomyélitiques (en particulier pour le poliovirus épidémique de type I) confirma l'étiologie Coxsackie.

— Stern (502) : Parésie de la jambe droite avec atteinte des muscles fléchisseurs et extenseurs chez un garçon de 5 ans vacciné par 3 doses de

vaccin Salk. Guérison complète en 7 jours. Isolement d'un virus Coxsackie B_5 dans les selles. Ascension des anticorps neutralisants homologues. mais pas de modifications des anticorps poliomyélitiques.

Parésie de la main et du bras gauches, associée à un syndrome méningé chez un jeune homme de 20 ans qui a reçu 2 doses de vaccin poliomyélitique. Virus Coxsackie B_5 dans les selles. Elévation des anticorps neutralisants (1/5 à 1/500), sans ascension des anticorps poliomyélitiques. Une légère parésie persista 4 semaines.

— Martineau (446) : A la suite d'un épisode grippal, parésie des deux jambes chez un enfant de 2 ans. Isolement d'un virus Coxsackie B_5 dans les selles et ascension des anticorps neutralisants spécifiques (1/178 à 1/1412). Absence d'anticorps poliomyélitiques.

Thieffry (515 - 516) : 2 cas de paralysies chez des enfants :

— Paralysie abdominale limitée au grand oblique droit chez une fillette de 3 ans qui avait présenté auparavant des douleurs vagues et des malaises depuis 15 jours et des troubles généraux et des douleurs abdominales depuis 48 heures. Le L.C.R. était normal. La paralysie, nettement améliorée au bout de 2 mois. avait complètement disparu après 6 mois. Un virus Coxsackie B_3 (mais aucun virus poliomyélitique) fut isolé à partir des selles le 21^e jour de la maladie. A cette date, des anticorps neutralisants spécifiques furent mis en évidence dans le sérum.

— Paralysie isolée du muscle petit oblique de l'œil droit se traduisant par une diplopie chez un garçon de 11 ans. Cette paralysie est apparue brutalement sans aucun prodrome et disparut en quelques jours. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé des selles au 5^e jour de la maladie, mais pas de poliovirus. Présence d'anticorps neutralisants homologues.

Il existait des anticorps neutralisants pour les poliovirus II et III dans le premier cas, et pour les types I et III dans le 2^e cas, mais l'absence d'anticorps fixant le complément a permis d'éliminer une affection poliomyélitique.

Magoffin et coll. (442) : Plusieurs cas de paralysies avec isolement d'un virus Coxsackie B_2, B_3, B_4 ou B_5 dont

— une paralysie faciale gauche chez un garçon de 16 ans qui a guéri complètement. Isolement d'un virus Coxsackie B_2 dans les selles. Anticorps neutralisants spécifiques au taux de 1/256 à la période de convalescence. Sérologie négative pour les virus poliomyélitiques.

— une paralysie des muscles de la ceinture scapulaire associée à une méningite aseptique chez un homme de 64 ans. Une parésie résiduelle a persisté pendant un an. Isolement d'un virus Coxsackie B_4. Pas d'étude sérologique.

Giovanardi et coll. (371) : un cas de paralysie faciale à virus Coxsackie B_3.

Des accidents paralytiques ont également été signalés par Drouhet (340), Abe (277).

A la suite de ces différentes observations, il est possible de définir *les principaux caractères de ces paralysies à virus Coxsackie B.*

Elles surviennent habituellement par cas sporadiques isolés et atteignent surtout les enfants de 1 à 12 ans, mais des observations ont également été décrites chez des nourrissons de 1 mois et 6 mois (400) et chez des adultes, en particulier chez un homme de 64 ans (442). Elles seraient plus fréquentes chez les sujets vaccinés contre la poliomyélite (371 - 442).

Elles peuvent apparaître brutalement sans prodromes (516), mais elles sont souvent précédées d'un épisode infectieux comportant de la fièvre, un malaise, des douleurs plus ou moins vagues (516 - 446), parfois d'une méningite abactérienne (397 - 400). Mais cette dernière n'est pas constante, et l'examen du L.C.R. peut être normal (516).

Elles sont généralement asymétriques et peu extensives, limitées à un petit groupe musculaire. Les observations signalent des localisations variées : muscles des membres le plus souvent (397 - 400 - 446 - 502) mais aussi muscles scapulaires (237 - 397 - 442) et abdominaux (237 - 400 - 515), paralysie faciale (371 - 400 - 442) ou paralysie des oculo-moteurs (515 - 516).

Ce sont des paralysies flasques. Elles peuvent s'accompagner d'une diminution ou d'une abolition des réflexes ostéo-tendineux, mais l'état de ceux-ci est rarement précisé. Elles sont généralement peu sévères et se limitent parfois à de simples parésies (446).

Habituellement transitoires, elles disparaissent en 2 à 8 jours (400 - 502 - 515), parfois plus lentement en 2 à 5 mois (515). L'évolution se fait presque toujours vers la guérison complète. Les séquelles sont rares. Steigman (237) signale cependant une atrophie musculaire résiduelle pendant 15 mois.

Des formes plus graves ont été rarement décrites. Jarcho (397) rapporte chez une jeune femme de 19 ans une paralysie du diaphragme avec des troubles respiratoires intenses ayant nécessité une trachéotomie et une assistance respiratoire. Des paralysies des muscles de la cuisse et du deltoïde droit furent également observées. La guérison fut totale, sans séquelles. Les mouvements diaphragmatiques redevinrent normaux en

moins de 3 semaines. L'étude virologique fut en faveur d'une infection à virus Coxsackie B_5 (isolement du virus dans les selles et ascension des anticorps neutralisants spécifiques de 1/4 à 1/32). Par contre, aucun poliovirus ne put être isolé et l'étude sérologique ne montra pas d'anticorps antipoliomyélitiques.

Une forme bulbo-spinale rapidement mortelle a été décrite par KALTER (407). Un virus Coxsackie B_3 a été isolé à partir de la moelle.

Récemment CHAPTAL et coll. (307) ont signalé une forme paralytique grave avec quadriplégie et atteinte des muscles respiratoires, d'évolution non mortelle mais grevée d'importantes séquelles. Un poliovirus fut isolé à partir des selles, mais l'étude sérologique montra une ascension du taux des anticorps pour un virus Coxsackie B.

Le tableau clinique est donc très voisin de celui de la poliomyélite, mais les paralysies sont habituellement moins sévères et le pronostic est meilleur, généralement sans séquelles.

Des accidents paralytiques ont également été décrits avec certains virus Coxsackie A (A_2, A_4, mais surtout A_7 et A_9), et avec plusieurs virus E.C.H.O. (type 4, 11, 16, plus souvent 6 et 9). Une mention toute particulière doit être faite pour le virus Coxsackie A_7 qui est capable de produire des paralysies chez le singe et qui est considéré par les auteurs russes comme un 4e type de poliovirus. Ce virus A_7, ainsi que le type A_{14}, sont capables de produire chez cet animal des lésions des neurones moteurs tout à fait comparables à celles de la poliomyélite. De même, le virus Coxsackie B_4 est capable de produire des lésions dégénératives des cellules ganglionnaires des cornes antérieures de la moelle, avec neuronophagie chez le souriceau nouveau-né (410). STEIGMAN a observé des lésions de type poliomyélitique dans le cerveau d'un singe rhésus infecté par un virus Coxsackie B_2. Des lésions comparables ont été découvertes à l'autopsie d'enfants nouveau-nés ayant fait une infection mortelle à virus Coxsackie B_3 (410 - 453) ou B_4 (344 - 409).

IV. — Syndrome de Guillain et Barré

Un virus Coxsackie a été isolé à plusieurs reprises au cours d'un Syndrome de Guillain et Barré ((395 - 449 - 496). Mais les observations sont souvent incomplètes et le rôle de ces virus dans la maladie n'est pas admis par tous les auteurs (515).

OBSERVATION PERSONNELLE

S... *Jean-Pierre*, 16 ans, est admis le 14.8.63 à la Clinique Médicale B.

Depuis le mois de mai, il se plaint de fatigue, d'anorexie et d'insomnies. Huit jours avant son hospitalisation, il a présenté des douleurs cervicales ainsi qu'une violente douleur thoracique localisée du côté droit et intensifiée par les mouvements respiratoires. De la constipation et des vomissements sont notés depuis 4 jours.

A l'entrée, on découvre un malade nerveux, en mauvais état général. L'examen neurologique est négatif. Le reste de l'examen somatique est sans anomalie, sauf de petites adénopathies axillaire droite et cervicale gauche. Trois jours plus tard apparaît une paralysie faciale sans signes pyramidaux. Une ponction lombaire montre l'absence de blocage à l'épreuve de Queckenstedt-Stookey, mais un liquide céphalo-rachidien anormal : pleiocytose à 234 cellules/mm3 avec prédominance de lymphocytes et une albuminorachie à 1,10 g/l ; glycorachie normale. Une étiologie bacillaire ou poliomyélitique semblait peu probable : en effet le malade avait été vacciné par le B.C.G. en novembre 1960, avec virage contrôlé au bout de 6 semaines, et en 1961 contre la poliomyélite avec rappel un an plus tard. Par contre, une autre étiologie virale pouvait être envisagée.

De nouvelles ponctions lombaires pratiquées régulièrement montrent une légère augmentation de la pleiocytose (575 cellules/mm3 le 4.9.63 - 236 cellules/mm3 le 9.9.63 - 310 éléments/mm3 le 21.9.63). Cependant, la paralysie faciale disparaît au bout de 8 jours. Les autres examens (vitesse de sédimentation, urée, numération-formule) restent normaux.

Virologie :

Un *virus Coxsackie* B_5 a été isolé sur cellules rénales de singe et sur cellules K B à partir des selles du 15.8.63 et du 31.8.63, mais non à partir du prélèvement de gorge et du liquide céphalo-rachidien.

Des anticorps neutralisants spécifiques sont trouvés au taux de 1/16 dans les sérums du 21.8.63 et du 21.9.63. Réactions de fixation du complément négatives pour la grippe et l'ornithose-psittacose.

Le malade quitte le Service au bout de 5 semaines, bien que son L.C.R. ne soit pas encore normalisé.

Nous l'avons revu un mois plus tard. L'examen neurologique est alors absolument normal, mais le L.C.R. montre encore une pleiocytose de 66 cellules/mm3 et une albuminorachie à 0,49 g/l ; urée, glycémie, vitesse de sédimentation normales.

CONCLUSION

Des virus Coxsackie B ont été isolés au cours de différentes affections du système nerveux.

Parmi celles-ci, les méningites lymphocytaires sont les plus fréquentes.

Sous forme sporadique, elles ont été associées aux sérotypes B_1 à B_5. Les types B_2, B_3 et B_5 peuvent provoquer des épidémies. Nous avons observé à Nancy une petite épidémie due à un virus Coxsackie B_5. D'évolution toujours bénigne, ces méningites ne présentent aucune particularité clinique qui puisse orienter le diagnostic étiologique. Le virus a pu être isolé à plusieurs reprises à partir du liquide céphalo-rachidien.

Des méningo-encéphalites ont également été décrites. Elles guérissent habituellement sans séquelles. Un cas mortel chez un enfant de 8 ans et un syndrome de Parkinson post-encéphalitique chez une femme de 54 ans ont cependant été rapportés.

Des virus Coxsackie B ont également été associés à un cas d'ataxie cérébelleuse et à des syndromes d'hypertension intra-crânienne.

Leur responsabilité dans la pathogénie de certaines paralysies pseudo-poliomyélitiques a pu être démontrée par l'étude biologique. Ces paralysies sont habituellement peu sévères et transitoires. Nous avons eu l'occasion d'observer une paralysie faciale associée à une méningite lymphocytaire lors d'une infection à virus Coxsackie B_5.

En fait la neuropathogénicité des virus Coxsackie B n'est pas encore parfaitement connue. Nous avons relevé dans la littérature toute une série d'observations souvent isolées et disparates qui ne sont pas toutes accompagnées des preuves virologiques et sérologiques souhaitables pour poser un diagnostic définitif. Nous n'avons rapporté ici que celles qui nous paraissent les plus valables.

CHAPITRE IV

AUTRES MANIFESTATIONS DE L'INFECTION A VIRUS COXSACKIE B

I. — Atteintes cutanées et muqueuses

1. — *Exanthèmes.*

Des éruptions cutanées ont été décrites assez fréquemment au cours de certaines infections à virus E.C.H.O. et à virus Coxsackie A (A_9, $_{10}$, $_{16}$). Par contre, peu de publications mentionnent l'association d'un exanthème à une infection Coxsackie B. A part une petite épidémie due à un virus Coxsackie B_5, toutes concernent des cas sporadiques. Ceux-ci ont été associés surtout aux sérotypes B_1, B_3 et B_5.

Coxsackie B_1. — Lycke et coll. (436) ont décrit chez un nourrisson de 9 mois un exanthème rubéoliforme apparu à la fin d'un épisode fébrile de 2 jours, sans signes catarrhaux ni méningés associés. Particulièrement marquée au niveau des oreilles et du tronc, plus discrète au niveau des membres, l'éruption s'est effacée progressivement en 48 heures. Un virus Coxsackie B_1 fut isolé à partir des selles. Des anticorps neutralisants homologues étaient présents au taux de 1/128 dans le sérum de la phase aiguë et au taux de 1/512, 3 semaines plus tard. Toutes les tentatives pour isoler un autre entérovirus plus fréquemment associé à une telle éruption se sont révélées négatives.

— L'observation de Glajchen (372) concerne un cas de pleurodynie compliquée d'une méningite abactérienne et d'une myocardite chez une jeune femme de 24 ans. A la suite de l'administration de corticoïdes, apparition d'une éruption maculaire au niveau du tronc, des bras et de la

face. Un virus Coxsackie B_1 fut isolé dans les selles et dans le L.C.R. Le sérum prélevé au début de la maladie ne contenait pas d'anticorps neutralisants, mais ceux-ci étaient présents à un taux élevé 6 semaines plus tard.

Coxsackie B_3. — Lerner et coll. (428) rapportent 2 cas d'éruption vésiculeuse chez des nourrissons.

— Chez le premier, âgé de 9 mois, l'exanthème s'est accompagné de fièvre, d'une pharyngite érythémateuse et d'adénopathies généralisées. Constituée par de petites vésicules de 1 à 3 mm de diamètre reposant chacune sur une base érythémateuse et localisée au niveau du cuir chevelu, des doigts, du tronc, de l'abdomen et des jambes, cette éruption fut tout d'abord diagnostiquée comme varicelle. Elle disparut au bout de quelques jours. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir de la gorge et un poliovirus de type III à partir des selles. L'étude sérologique montra une ascension des anticorps neutralisants de 1/10 à 1/32 pour le virus Coxsackie B_3 et de 1/10 à 1/128 pour le poliovirus. D'autres éruptions vésiculeuses chez des enfants sont signalées à cette époque dans la région.

— Un exanthème d'aspect semblable est décrit chez un nourrisson de 6 mois. Chez celui-ci les vésicules siègent en particulier au niveau des paumes et des plantes. L'éruption s'est également accompagnée de fièvre et d'adénopathies généralisées, mais aussi d'un énanthème pharyngé. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir des selles et de la gorge, mais non à partir du liquide vésiculaire, des prélèvements conjonctivaux et des urines. La mère de l'enfant avait présenté quelques jours auparavant des vésicules semblables au niveau des mains et des bras.

L'existence d'une infection concomitante par un autre entérovirus dans le premier cas, et l'absence d'étude sérologique dans la deuxième observation ne permettent cependant pas d'attribuer de façon certaine la responsabilité de l'exanthème au virus Coxsackie B_3.

Coxsackie B_5. — Siegel et coll. (493) signalent un rash morbilliforme chez deux enfants présentant un syndrome hépato-splénique lors d'une infection à virus Coxsackie B_5.

— Yaffe (547) : Isolement d'un virus Coxsackie B_5 chez 2 malades présentant un érythème multiforme. L'auteur envisage une relation possible avec une épidémie de stomatites vésiculo-pustuleuses qui sévissait alors à Boston. Mais l'absence d'étude sérologique chez les deux malades et l'absence d'isolement d'un virus dans les cas de stomatite ne permettent aucune confirmation.

— Récemment Cherry (308) et Lerner et coll. (427) rapportent 7 cas d'exanthèmes chez des malades hospitalisés à Boston en août et septembre 1961, lors d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5. Tous concernent des enfants âgés de 3 semaines à 14 ans (dont 5 de moins de 18 mois). Le virus Coxsackie B_5 fut isolé chez 6 malades (5 fois à partir du pharynx, 3 fois à partir des selles et 1 fois à partir du L.C.R.) et une ascension des anticorps homologues neutralisants et inhibant l'hémagglutination fut mise en évidence chez 5 enfants. L'éruption est apparue soit avant la fièvre (1 cas), soit pendant l'épisode fébrile (3 cas), soit après la défervescence (3 cas) et avait complètement disparu au bout de 36 heures. Chez l'un des enfants elle prit un aspect urticarien, mais chez les 5 autres l'exanthème se présenta sous forme de petites maculo-papules qui apparurent d'abord sur la face et la nuque, puis se généralisèrent en 4 à 24 heures, atteignant le tronc, puis les membres. Les paumes et les plantes étaient toujours épargnées. Chez tous les enfants, la fièvre resta modérée (38°) et céda en 2 à 3 jours, sauf dans un cas où elle fut plus élevée et présenta des récurrences pendant 10 jours. D'autres symptômes accompagnèrent l'exanthème : pharyngite (1 cas), conjonctivite (3 cas), anorexie et vomissements (3 cas), toux et coryza (2 cas), adénopathies cervicales (5 cas), occipitales (3 cas) et rétro-auriculaires (1 cas), mais jamais d'énanthème. Une ponction lombaire fut pratiquée chez 3 enfants, dont 2 présentèrent une discrète réaction méningée avec pleiocytose à prédominance lymphocytaire et hyperalbuminorachie. Selon les cas, la leucocytose sanguine variait de 8.800 à 21.700 cellules/mm3, avec habituellement une légère augmentation du pourcentage des polynucléaires neutrophiles.

— Stern (502) signale également une éruption maculaire généralisée associée à une méningite abactérienne chez deux malades de 9 ans et 19 ans au cours d'une infection à virus Coxsackie B.

— Plus récemment Ajjan et coll. (279) rapportent l'isolement de virus Coxsackie A_9, A_{23}, B_1, B_2 et B_4 au décours de maladies éruptives. Ils distinguent 2 types d'exanthèmes selon que l'éruption apparaît en même temps que la fièvre ou après la chute thermique.

Conclusion :

Des exanthèmes ont été observés à plusieurs reprises au cours d'infections fébriles à virus Coxsackie B.

Il s'agit habituellement de cas sporadiques associés le plus souvent aux sérotypes B_1, B_3 et B_5. Une seule petite épidémie à virus Coxsackie B_5 a été décrite. Ce sont des éruptions variées, sans caractères spécifiques. Elles

peuvent ressembler à une rubéole, une rougeole, une varicelle. Apparaissant surtout chez les nourrissons et les jeunes enfants, elles sont habituellement discrètes et disparaissent rapidement en 2 à 3 jours. Elles surviennent généralement au cours d'une maladie fébrile légère, dont l'évolution est toujours bénigne. Elles sont parfois associées à une méningite abactérienne. Mais les tableaux cliniques réalisés n'ont pas l'allure stéréotypée qui permit aux cliniciens d'individualiser les principales fièvres éruptives longtemps avant l'identification des agents responsables. La démarche inverse, qui consiste à rechercher quelles manifestations cutanées peuvent être attribuées à un virus connu, apparaît infiniment plus délicate pour qui connaît le polymorphisme de la pathologie cutanée de l'enfant, et la difficulté d'interprétation des résultats virologiques.

2. — *Affections vésiculeuses de l'oro-pharynx.*

Certains virus Coxsackie A (A_2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 et 16) sont responsables d'une affection pharyngée, l'herpangine, connue depuis longtemps et dont les principales manifestations sont un syndrome infectieux et l'apparition au niveau du pharynx de petites lésions vésiculeuses caractérisées par leur siège postérieur (voile du palais, piliers, parfois amygdales et paroi postérieure du pharynx), leur relative indolence et leur évolution rapide et bénigne.

Plus récemment des aspects comparables ont été observés au cours d'infections à virus Coxsackie B_2, B_3 et B_5. Cependant ces observations ne sont pas toujours convaincantes. En effet, si elles démontrent habituellement une infection contemporaine par les virus Coxsackie B, elles ne permettent pas toujours d'éliminer une association possible avec un virus du groupe A.

— En 1958, à Hawaï, au cours d'une épidémie de maladies du système nerveux due à plusieurs entérovirus, Johnson et coll. (399) signalent chez une enfant de 2 ans, présentant par ailleurs une méningite aseptique, l'apparition de petites vésicules qualifiées comme « typiques d'herpangine », au niveau du voile du palais. Un virus Coxsackie B_2 fut isolé à partir des selles et du L.C.R. et l'ascension des anticorps spécifiques vint confirmer l'infection. L'inoculation des selles au souriceau nouveau-né en présence d'antisérum B_2 n'a pas permis de déceler un virus Coxsackie A éventuellement associé.

- En 1960 une observation moins complète est rapportée par Lerner et coll. (428). Elle concerne un nourrisson de 6 mois dont la maladie

a comporté de la fièvre, un exanthème vésiculeux, des adénopathies. De plus, l'examen pharyngé révéla une rougeur diffuse et la présence de quelques ulcérations et vésicules. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir des selles et de la gorge.

— Enfin, en 1961, St-Geme et Prince (483) ont décrit une petite épidémie familiale d'infections du tractus respiratoire supérieur qui a été rapportée à un virus Coxsackie B_5. Chez le père et son fils âgé de 3 ans et demi, l'évolution a été sensiblement la même. La maladie a débuté par de la fièvre, un malaise, des vomissements et des céphalées. Au 3e jour on vit apparaître de petites vésicules au niveau de la paroi postérieure du pharynx, qui disparurent en 48 à 72 heures. La mère présenta une maladie semblable avec fièvre et gorge douloureuse, mais sans lésions pharyngées. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé sur souriceau à partir des prélèvements de gorge des 3 malades ; par contre aucun virus herpétique ne put être décelé. Les sérums de la phase aiguë n'ont pas été étudiés, mais des anticorps neutralisants spécifiques étaient présents à un taux élevé 5 et 10 mois après le début de la maladie dans le sérum des 3 sujets.

Des conjonctivites et *des otites* ont également été signalées au cours d'infections à virus Coxsackie B.

OBSERVATION PERSONNELLE

Nous avons eu l'occasion d'observer une stomatite vésiculeuse chez une enfant de 3 ans et demi infectée par un virus Coxsackie B_2.

C... Dominique est admise le 25 septembre 1961 à la Clinique Médicale Infantile pour angines à répétition et amygdalectomie éventuelle.

Lors d'un précédent séjour, en mars 1959, elle avait présenté un « rhumatisme infectieux » caractérisé par de la fièvre (39°), une gorge rouge, une fluxion douloureuse des articulations des doigts, et des orteils avec œdème bimalléolaire, accompagnée d'un érythème en cocarde au niveau des jambes et de la région sus-pubienne, qui disparut au bout de 3 jours. De la toux et quelques râles crépitants au niveau du champ droit furent également notés.

Un bilan inflammatoire fut réalisé à la recherche d'une maladie de Bouillaud, mais se révéla négatif. L'hémoculture et la coproculture ne permirent pas de déceler de germes pathogènes. Aucun virus ne fut isolé à partir du prélèvement de gorge. Tous les autres examens pratiqués (urines, radiographie pulmonaire, E.C.G.) étaient normaux. L'enfant quitta le Service un mois plus tard en bon état général.

Un deuxième bilan effectué en mai 1960 à la suite d'une nouvelle angine sans manifestations articulaires s'est également montré normal.

Le 25 septembre 1961, l'enfant qui a présenté plusieurs angines sans arthralgies au

cours des mois précédents, est hospitalisée pour la 3e fois. A l'entrée, l'examen montre une angine rouge et la présence de vésicules et d'ulcérations au niveau de la muqueuse buccale, qui évoquent une stomatite herpétique. Elles s'accompagnent de petites adénopathies sous-angulo-maxillaires et inguinales. Le bilan inflammatoire est toujours négatif.

Une étude virologique fut entreprise en vue de déceler un éventuel virus herpétique, mais celui-ci ne put être mis en évidence. Par contre, un *virus Coxsackie* B_2 fut isolé sur cultures cellulaires à partir du prélèvement de gorge du 27.9.61 et des selles du 27.9.61 et du 17.10.61. Aucune étude sérologique n'a été réalisée à la phase aiguë de la maladie mais le sérum tardif du 17.10.61 neutralisait le virus isolé à la dilution de 1/64.

Malheureusement aucun résultat ne permet d'exclure une éventuelle association avec un virus Coxsackie A.

II. — Atteintes viscérales

1. *Affections respiratoires :*

Une atteinte des *voies respiratoires supérieures* se manifestant par de la toux, un coryza, une angine, une pharyngite érythémateuse ou une laryngotrachéite, précède ou accompagne fréquemment certains syndromes cliniques dus aux virus Coxsackie B. Ces manifestations sont habituellement bénignes et transitoires. Un croup sévère ayant nécessité une trachéotomie a cependant été décrit par Babb et coll. (281) chez un nourrisson de 4 mois présentant une myocardite à virus Coxsackie B_5.

Mais de telles maladies du tractus respiratoire supérieur peuvent également survenir isolément sans localisations viscérales associées. Elles peuvent se manifester sous forme sporadique, parfois par petites épidémies.

Stern (502) signale une maladie respiratoire caractérisée par une fièvre modérée, un coryza et de la toux chez deux enfants de 3 ans et 12 ans au cours d'une infection à virus Coxsackie B_5.

Un virus Coxsackie B_4 a été isolé à plusieurs reprises au cours d'une épidémie d'affections respiratoires mineures associées ou non à des troubles digestifs chez des enfants (Paffenbarger, 648).

Enfin, des recherches systématiques effectuées aux Etats-Unis (405) et en Angleterre (408) afin de préciser l'origine de certaines infections des voies respiratoires supérieures chez des enfants ont permis d'isoler plusieurs fois un virus Coxsackie B_3 à partir des prélèvements pharyngés. L'infection par ce virus a été confirmée par l'étude sérologique.

Des affections broncho-pulmonaires ont également été décrites.

L'infection à virus Coxsackie B du nouveau-né s'accompagne fréquemment d'une pneumonie interstitielle (331 - 344 - 507), confirmée par l'examen anatomo-pathologique.

Sode et Baker (495) signalent une pneumonie associée à une péricardite aiguë bénigne chez un jeune homme infecté par un virus Coxsackie B_2.

Plus récemment Siegel et coll. (493) ont décrit 5 cas de pneumonies (dont 3 dans une même famille) chez des enfants âgés de 1 à 5 ans au cours d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5. L'évolution a été peu sévère et de courte durée. Le virus n'a été isolé que chez un seul malade et une ascension des anticorps neutralisants homologues a été observée chez un autre enfant. Le contexte épidémiologique plaide cependant en faveur de cette étiologie virale.

Ajjan et coll. (279) ont isolé à 3 reprises un virus Coxsackie B (B_2, B_3 et B_1) au cours de pneumopathies aiguës fébriles chez des enfants. En plus des signes fonctionnels et généraux habituels, ils ont pu observer des anomalies radiologiques se traduisant par des opacités segmentaires diffuses ou péri-hilaires. L'évolution fut toujours favorable. Une forme grave, dyspnéisante, est cependant signalée chez un nourrisson de 4 mois.

Récemment Jahn et coll. (395 bis) ont pu isoler, post mortem, un virus Coxsackie B_1 à partir du tissu pulmonaire d'un adulte de 21 ans qui avait présenté une pneumonie accompagnée de myocardite et péricardite.

Des signes d'atteinte pleurale peuvent accompagner ces pneumopathies. Des pleurésies ont également été décrites au cours de maladies de Bornholm (292 - 488) ou de péricardites aiguës bénignes (284 - 299).

Donc, chez l'enfant comme chez l'adulte, certains virus Coxsackie B ont été associés à des syndromes respiratoires non spécifiques : affections du tractus respiratoire supérieur, pneumopathies aiguës, pleurésies. Ces manifestations peuvent survenir isolément ou être associées à d'autres signes viscéraux. Elles sont habituellement peu sévères et transitoires.

2. *L'orchite :*

L'orchite figure depuis longtemps parmi les complications de la maladie de Bornholm.

Dès 1896, Bacher (283) l'associait à la pleurodynie. Depuis elle a été décrite à plusieurs reprises, mais son incidence varie selon les épidémies.

— Sylvest (511) : 1 cas sur 93 malades.

— Huss (394) : présence d'une orchite chez 50 malades au cours d'une épidémie de 884 cas.

— Jamieson (396) : 30 malades, 12 cas d'orchite. Toujours unilatérale, elle est apparue du 8e au 39e jour de la maladie et a persisté 2 à 6 jours.

— Warin et coll. (534) : 30 orchites pour 277 malades au cours d'une épidémie de pleurodynie.

— Morrisson et coll. (454) : 3 cas d'orchite au cours d'une petite épidémie familiale atteignant 5 membres d'une même famille.

— Swann (509) : 1 cas de pleurodynie compliqué d'une orchite et d'une myocardite chez un adulte (Coxsackie B_4).

— Plus récemment Craighead et coll. (317) ont décrit une orchite chez un étudiant de 25 ans qui avait présenté 16 jours auparavant une affection fébrile avec douleurs thoraciques, compliquée au 4e jour d'une pharyngite ulcéreuse. Après une période asymptomatique de 7 jours, la fièvre réapparut, accompagnant une tuméfaction douloureuse du testicule droit qui persista une dizaine de jours. Une intervention fut décidée au 3e jour de l'orchite pour soulager le malade et une biopsie testiculaire fut pratiquée. Un virus Coxsackie B_5 fut isolé à partir du tissu biopsé et l'étude sérologique mit en évidence une ascension des anticorps neutralisants homologues de 1/32 à 1/256.

Caractéristiques de l'orchite à virus Coxsackie B :

Elle accompagne toujours une maladie de Bornholm. De même que l'orchite ourlienne, elle n'atteint généralement que les sujets ayant dépassé l'âge de la puberté. Elle se présente comme une complication tardive, apparaissant 8 à 40 jours après le début des myalgies. Habituellement unilatérale, elle se traduit par un gonflement et une douleur du testicule pouvant simuler une torsion. Ces symptômes disparaissent en 2 à 10 jours. Une étude histologique a été réalisée chez le malade de Craighead et coll. (317). Elle a montré des lésions inflammatoires aiguës, non suppuratives, analogues à celles décrites dans l'orchite ourlienne. La présence du virus en grande quantité dans la suspension testiculaire (à la dilution de

1/1.000) montre que cet organe est bien le site d'une réplication virale. La guérison se fait habituellement sans séquelles.

3. *Atteinte hépatique :*

— Une atteinte hépatique peut accompagner l'encéphalo-myocardite du *nouveau-né*. Elle se traduit habituellement par un ictère plus ou moins intense et parfois par un syndrome hémorragique dû à une baisse du taux de la prothombine. Des lésions dégénératives et inflammatoires de l'organe sont découvertes à l'autopsie.

Kibrick et Benirscke (410) et plus récemment Bach et coll. (282) ont décrit un aspect particulièrement sévère où les signes hépatiques ont dominé le tableau clinique.

Chez le nouveau-né de Kibrick, l'ictère est apparu dès la 13e heure après la naissance. Il s'est accompagné d'une hépatomégalie, d'œdèmes périphériques et d'un syndrome hémorragique caractérisé par des pétéchies diffuses, des hématémèses et un melaena. L'étude biologique a mis en évidence une hypoprothrombinémie, une bilirubinémie directe à 1,5 mg pour 100 ml. A l'autopsie, nécrose massive du parenchyme hépatique. Un virus Coxsackie B_4 a été isolé à partir du myocarde, du foie et de la moelle.

L'observation de Bach concerne un nouveau-né de 8 jours qui a présenté une méningo-encéphalite et un ictère grave qui ont entraîné la mort en 10 jours. A l'ictère avec hépatomégalie se sont associés des œdèmes périphériques, un syndrome hémorragique (purpura et melaena) et un syndrome biologique traduisant une insuffisance hépatique sévère : hypoprothrombinémie, effondrement du cholestérol estérifié, élévation du taux des transaminases glutamiques oxalo-acétiques (S.G.O.T. : 1.900 unités) et des transaminases pyruviques (900 unités). A l'autopsie : nécrose hépatique étendue, encéphalite, lésions discrètes du myocarde. Un virus Coxsackie B_3 a été isolé à partir des selles et du L.C.R.

— Une atteinte hépatique a été plus rarement signalée chez *l'enfant plus âgé et l'adulte.*

Bell et Meis (288) décrivent un cas isolé de pleurodynie avec péricardite et hépatite chez un technicien de laboratoire contaminé accidentellement par un virus Coxsackie B_3.

O'Shaughnessey (458) signale chez une femme enceinte des signes de méningo-encéphalite, une conjonctivite, une pharyngite et une atteinte hépato-rénale démontrée par les examens biologiques, mais ne s'accom-

pagnant ni d'hépatomégalie ni de splénomégalie. Un virus Coxsackie B_5 a été isolé.

Plus récemment, Siegel et coll. (493) ont décrit un syndrome caractérisé par de la fièvre, des signes digestifs (anorexie - nausées - vomissements) et par une hépatomégalie douloureuse sans ictère, parfois associée à une splénomégalie. Les tests fonctionnels hépatiques ne sont pas perturbés. Une conjonctivite, une pharyngite et des adénopathies cervicales et axillaires sont fréquemment observées. L'évolution est habituellement rapidement favorable et tous les signes cliniques ont disparu au bout de 8 jours. Les études virologique et sérologique ont permis de rattacher ce syndrome au virus Coxsackie B_5.

4. Mais *une splénomégalie* peut également exister isolément sans atteinte hépatique.

5. *Des adénopathies* ont été fréquemment décrites au cours d'infections à virus Coxsackie B : maladie de Bornholm (288 - 457), exanthème (308 - 428), syndrome hépato-splénique (493).

Ajjan et coll. (279) ont isolé un virus Coxsackie B_2 chez 2 enfants de 15 mois et 7 ans qui ont présenté un syndrome fébrile associé à une adénopathie cervicale. Les réactions de Paul et Bunnel et de Bordet-Wasserman, la cuti-réaction et l'intra-dermo-réaction, un test de lyse du toxoplasme étaient négatifs. La maladie a évolué rapidement vers la guérison en 10 jours.

Chaptal et coll. ont observé une volumineuse adénopathie cervicale accompagnée de fièvre chez un nourrisson de 10 mois. La sérologie était fortement positive pour un virus Coxsackie B.

6. *Des pancréatites* (455 bis) et *des néphrites* ont été plus rarement décrites.

7. *Gastro-entérites :*

Des virus Coxsackie B (B_1 à B_5) ont été isolés à plusieurs reprises à partir des selles d'enfants sains, en l'absence de tout syndrome diarrhéique (214 - 328).

L'attribution d'une gastro-entérite ou d'une diarrhée à l'un de ces virus sera donc difficile. Pour affirmer une telle étiologie, il sera néces-

saire non seulement d'isoler le virus dans les selles du malade et de mettre en évidence un taux croissant d'anticorps spécifiques dans son sérum, mais il faudra encore démontrer statistiquement que ce virus est plus fréquemment rencontré chez les sujets atteints de gastro-entérite que chez les sujets sains.

Plusieurs enquêtes concernant des cas sporadiques ont été réalisées dans ce sens. Nous citerons en particulier les travaux de Sommerville (497) qui fit une étude bactériologique et virologique systématique des prélèvements de selles de 338 enfants, âgés de 1 semaine à 5 ans, admis pour gastro-entérite à l'hôpital Ruchill à Glasgow. Des examens semblables furent pratiqués simultanément chez 115 enfants hospitalisés pour une infection respiratoire sans troubles digestifs associés. Si le nombre des virus E.C.H.O. isolés se révéla plus élevé chez les sujets atteints de diarrhée (7% contre 2,5 % dans le 2e groupe), par contre l'incidence des virus poliomyélitiques et Coxsackie (4 à 7 %) était sensiblement la même dans les 2 groupes. Une statistique analogue a été publiée par Ramos-Alvarez et Sabin (654).

Des résultats plus satisfaisants ont été obtenus par Felici et coll. (347) lors d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_3 qui a sévi au cours de l'été 1959 à Poggio Saint-Marcello. Une étude clinique, épidémiologique, et virologique a été réalisée. La maladie a frappé surtout les nourrissons. Elle était caractérisée par 3 symptômes majeurs : fièvre (dans 100 % des cas), céphalées (64 %) et diarrhée (54 %). D'autres manifestations variées, mais moins fréquentes (vomissements, asthénie, myalgies, arthralgies, exanthèmes, splénomégalie, hépatomégalie, méningisme) pouvaient s'y associer. L'étude virologique a été pratiquée non seulement chez les sujets atteints de diarrhée, mais aussi chez des sujets sains en contact avec ceux-ci. Elle a permis d'isoler 20 souches de virus Coxsackie B_3, dont 16 chez les malades et seulement 4 dans le groupe de contrôle. Une réponse immunologique spécifique a été observée chez 39 sujets.

Plus récemment Wisner et coll. (544) à la suite d'une étude portant sur 240 cas sporadiques, concernant des enfants de moins de 3 ans, concluent à la fréquence des gastro-entérites à virus E.C.H.O.$_6$ et $_7$ et à Coxsackie B_3.

Gaillard et coll. (359) ont décrit chez un nouveau-né de 10 jours une méningite lymphocytaire associée à un syndrome diarrhéique grave. Ce dernier évolua en deux phases et aboutit à un état de deshydratation intense. L'infection par le virus Coxsackie B_3 fut démontrée par l'isolement de cet agent dans les selles et par l'ascension des anticorps sériques homologues.

Ainsi, il est actuellement difficile d'affirmer la responsabilité des virus Coxsackie B dans la pathogénie de certaines gastro-entérites infantiles. Seul le rôle pathogène du sérotype B_3 semble probable, mais les observations actuelles ne sont pas encore assez nombreuses pour permettre des conclusions définitives.

III. — Maladie mineure

Sous le nom de « *Maladie mineure* » (ou Minor Illness des auteurs américains), de « *grippe d'été* », de « *fièvre des trois jours* », on a décrit toute une série d'épisodes fébriles accompagnés de symptômes variés et non spécifiques, tels que céphalées, nausées, vomissement, diarrhée, myalgies, toux, coryza. Toujours bénins et de courte durée, ces syndromes peuvent se présenter par cas sporadiques, plus souvent par petites épidémies. Ils sont fréquemment rencontrés dans l'entourage des malades atteints d'une affection à virus Coxsackie B. Ils accompagnent les épidémies de maladie de Bornholm, de méningites abactériennes, de myocardites néonatales. Ils surviennent surtout chez les adultes, les enfants présentant habituellement une maladie plus sévère. L'infection virale est démontrée par l'isolement du virus et l'ascension des anticorps spécifiques. Ils semblent correspondre à des formes frustes de l'infection à virus Coxsackie B.

IV. — Infection à virus Coxsackie B chez la femme enceinte Anomalies fœtales

Il ne semble pas y avoir d'exaltation du pouvoir pathogène sous l'effet de la gravidité. Des infections respiratoires mineures (344 - 409 - 410), plus rarement une pleurodynie (388), une méningite lymphocytaire (331 - 467) ou une méningo-encéphalite (458), d'évolution toujours bénigne, ont été décrites chez des femmes enceintes.

La contamination du fœtus in utero, par voie transplacentaire, est probable. Nous reviendrons ultérieurement sur ce sujet. Aucun cas d'avortement n'a été rapporté. Une observation de Makower, Skurska et Halazinska (443) permet d'entrevoir une relation possible entre l'apparition d'une infection à virus Coxsackie pendant les premières semaines de la grossesse et la constitution de malformations fœtales. Il s'agit d'une jeune femme qui a présenté une maladie fébrile atypique au cours du premier mois de sa grossesse. L'enfant, né prématurément après 32 semaines de

SEROTYPE	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6
Maladie de Bornholm	+	+	+	+	+	+
Myocardites aiguës						
du nouveau-né : épidémies			+	+		
cas sporadiques		+	+	+	+	
de l'enfant et de l'adulte	+	+	+		+	
Myoendocardite fibro-élastique de l'endocarde			+			
Péricardites aiguës bénignes	+	+	+	+	+	
Méningites abactériennes : épidémies		+	+		+	
cas sporadiques	+	+	+	+	+	
Méningo-encéphalites diffuses : épidémies			+	+	+	
cas sporadiques		+		+	+	
Ataxie					+	
Paralysies pseudo-poliomyélitiques		+	+	+	+	
Exanthèmes	+		+		+	
Affections vésiculeuses de l'oro-pharynx		+	+		+	
Affections respiratoires		+	+	+	+	
Orchites				+	+	
Atteinte hépatique			+	+	+	
Gastro-entérites			+			
Maladies mineures	+	+	+	+	+	

Symptomatologie des infections à virus Coxsackie B, en fonction du sérotype.

gestation, présenta de multiples anomalies : hypertrophie cardiaque, malformations de l'œil et de l'oreille droits, fistule œsophago-trachéale. Il succomba à l'âge de 4 jours à la suite d'une bronchopneumonie. Un virus Coxsackie A_4 fut isolé à partir du méconium et le sang de la mère contenait des anticorps neutralisants homologues à titre élevé au moment de la naissance. Selon FRUHLING et coll. (356) l'apparition précoce de la virose, pendant l'organogénèse cardiaque, pourrait entraîner des lésions malformatives du cœur sans phénomènes inflammatoires associés. Par contre, si l'infection se produit pendant la phase fœtale de la gestation, elle pourrait déterminer chez le fœtus des lésions inflammatoires aiguës du myocarde dont le passage à la chronicité préluderait à l'apparition d'une fibro-élastose.

CONCLUSION

Au terme de cette étude clinique, nous ne pouvons que souligner le polymorphisme de l'infection Coxsackie B. Aucune des maladies décrites précédemment n'est propre à un type particulier de virus. De plus, chaque sérotype peut déterminer, selon les individus, des syndromes variés.

Toutefois, malgré leur diversité clinique, ces affections présentent certains points communs :

— leur gravité plus marquée dans le jeune âge et leur bénignité habituelle chez l'adulte,

— leur allure soit sporadique, soit épidémique,

— enfin une expression épidémiologique commune que nous allons envisager.

TROISIEME PARTIE

EPIDÉMIOLOGIE ET PHYSIOPATHOGÉNIE DES INFECTIONS A VIRUS COXSACKIE B

CHAPITRE I

CARACTÈRES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DES INFECTIONS A VIRUS COXSACKIE B

EPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES A VIRUS COXSACKIE B

A. — Caractères épidémiologiques généraux

B. — Caractères des épidémies à virus Coxsackie B

DIFFUSION DES VIRUS COXSACKIE B CHEZ L'HOMME SAIN

A. — Etudes virologiques

B. — Enquêtes sérologiques

CHAPITRE II

RAPPORTS DES VIRUS COXSACKIE B AVEC D'AUTRES VIRUS

I. — Rapports des virus Coxsackie B avec les virus poliomyélitiques

A. — Etude expérimentale

B. — Arguments cliniques et épidémiologiques

II. — Autres associations

CHAPITRE III

SOURCES, TRANSMISSION ET DIFFUSION DANS L'ORGANISME DES VIRUS COXSACKIE B

I. — Sources de virus

A. — L'homme, source de virus Coxsackie

B. — Les virus Coxsackie dans l'environnement de l'homme

II. — Modes de transmission de l'infection. Voies de pénétration

III. — Diffusion des virus Coxsackie B dans l'organisme.

CHAPITRE I

L'infection d'un organisme humain par un virus Coxsackie B peut s'accompagner de manifestations pathologiques variées. Elle peut également rester silencieuse et se traduire uniquement par l'apparition d'anticorps humoraux spécifiques.

Pour connaître l'épidémiologie des infections à virus Coxsackie B il est donc nécessaire, non seulement d'étudier les maladies provoquées chez l'homme, mais aussi de réaliser des enquêtes systématiques chez des sujets sains.

ÉPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES A VIRUS COXSACKIE B

Qu'elles se manifestent par cas sporadiques ou sous forme épidémique, les maladies à virus Coxsackie B, malgré leur diversité clinique, ont une expression épidémiologique commune.

I. — Caractères épidémiologiques généraux

Leur distribution géographique est ubiquitaire. Elles ont été décrites sous toutes les latitudes, plus fréquemment en zone tempérée, mais aussi dans des pays à climat chaud ou froid.

Localisée initialement dans les pays Nordiques — Danemark (510 - 511), Suède (394) — la maladie de Bornholm a été signalée depuis dans le monde entier : Hollande (528), Angleterre (349 - 534), Allemagne (540 - 542),

Belgique (314 - 447 - 521), France (159 - 335), Suisse (514), Amérique (284 - 392), Canada (440), Pologne (286), Hongrie (339 - 577), Tchécoslovaquie (360), Italie (346 - 369), Afrique du Sud (452 - 460), Australie (343 - 498) et plus récemment en Silésie (367).

La répartition des épidémies de méningites aseptiques attribuées à ces virus est également mondiale.

Les premiers cas de myocardite aiguë néo-natale ont été décrits en Afrique du Sud (398 - 452). Depuis, plusieurs observations ont été publiées en Hollande (524), en Hongrie (338), en Tchécoslovaquie (525), aux Etats-Unis (410 - 507), en France (282), en Angleterre (302).

Leur incidence saisonnière est celle de toutes les infections à entérovirus. Elles se manifestent surtout pendant les mois d'été et d'automne.

Des exceptions sont toutefois notées. Certaines épidémies commencent dès le printemps (Johnson, 400 - Null et Castle, 457 - Kagan et Bernkopf, 406). D'autres débutent en été, mais se poursuivent en hiver (Bain, 284). Ulstrup (519) signale une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5, en plein hiver, à Oslo. Surjus (250) a décrit, en Alsace, une épidémie attribuée au type B_3, qui a débuté au mois de mars 1960 et s'est poursuivie en avril et mai. En outre des cas sporadiques peuvent être observés toute l'année : deux cas de péricardites aiguës au mois de février et d'avril (Brodie, 299 - De Sanctis Monaldi, 484) ; un cas de paralysie diaphragmatique, fin avril (Jarcho, 397). Nous avons observé un cas de myocardite aiguë à Coxsackie B_5 au mois de février 1959.

Il ne semble pas y avoir de relation particulière entre le type de la maladie et son incidence saisonnière. Au cours d'une épidémie attribuée au virus Coxsackie B_5, Siegel et coll. (493) signalent cependant un certain ordre chronologique dans l'apparition des différents tableaux cliniques. Les syndromes hépato-spléniques et les pneumonies sont apparus avant le mois de juin, puis les cas de pleurodynie ont dominé.

Influence de l'âge. Les maladies à virus Coxsackie B sont plus fréquentes pendant l'enfance, mais l'âge de prédilection varie selon le type clinique de l'affection.

La maladie de Bornholm a été décrite à tous âges, mais surtout chez des enfants d'âge scolaire et des adultes jeunes (534). Sa fréquence chez le nourrisson est toutefois difficile à apprécier, en raison de l'aspect souvent non caractéristique des symptômes. L'orchite survient habituellement après la puberté.

Les myocardites aiguës sont plus fréquentes et plus sévères à la période néonatale. Mais quelques cas de myocardite, ainsi que des péricardites aiguës, d'évolution toujours bénigne, ont également été décrits chez des enfants plus âgés et des adultes.

Les affections du système nerveux : Les méningites lymphocytaires dominent pendant l'enfance. Au cours d'une épidémie due au virus Coxsackie B_5, Rubin et coll. (477) ont observé un taux de morbidité plus élevé chez les enfants, surtout entre 5 et 9 ans, les 2/3 des malades ayant moins de 20 ans. L'épidémie décrite à Strasbourg, pendant l'été 1956, frappa surtout les enfants. Sur les 93 cas hospitalisés à la Clinique Infantile, 66 avaient moins de 7 ans et 27 étaient âgés de 8 à 14 ans (250). Au cours de l'épidémie d'Aomori (Japon) durant l'été 1961, 417 sujets âgés de 15 ans ou moins ont été hospitalisés pour méningite aseptique (455 bis). Selon Johnsson (609), les enfants seraient plus aptes à réagir à l'infection Coxsackie B_3 par une méningite aseptique, et les adultes par une pleurodynie.

Chez le nouveau-né, la méningite s'accompagne fréquemment d'une *atteinte encéphalitique*. Celle-ci a été décrite également chez le nourrisson et l'enfant plus âgé. Elle est plus rare chez l'adulte. Walters (532) signale cependant une méningo-encéphalite compliquée d'un syndrome de Parkinson chez une femme de 54 ans.

Les formes paralytiques sont également l'apanage de l'enfance. La plupart des cas relevés dans la littérature concernent des enfants de 1 à 13 ans. Sur les 25 malades paralysés étudiés par Magoffin et coll. (442), tous, sauf trois, sont des enfants au-dessous de 12 ans. Une paralysie des muscles scapulaires est cependant décrite chez un homme de 64 ans.

Les autres manifestations, exanthèmes, pharyngites vésiculeuses, syndromes respiratoires, gastro-entérites... sont également plus fréquentes chez l'enfant. Mais les observations sont souvent trop rares pour avoir une valeur statistique. Cherry (308) a décrit 7 cas d'exanthèmes au cours d'une épidémie à virus Coxsackie B_5. Tous concernent des enfants de 3 semaines à 14 ans, 5 de ceux-ci étant âgés de moins de 18 mois.

Des maladies mineures ont été observées à tous les âges de la vie. Au cours des épidémies elles accompagnent fréquemment d'autres cas à symptomatologie plus sévère : méningites aseptiques, myocardites aiguës, maladies de Bornholm. Elles surviennent surtout chez les adultes, les enfants présentant habituellement des manifestations plus graves.

L'observation de Siegel et coll. (493) illustre particulièrement bien la relation existant entre la nature des symptômes et l'âge du malade. Au cours d'une épidémie d'infections à virus Coxsackie B_5 qui régna en Vir-

ginie, de mars à août 1956, les auteurs ont pu observer 3 tableaux cliniques dont la distribution suivant l'âge était la suivante :

pleurodynie (19 cas) : 3 à 41 ans (âge moyen : 24,9)
syndrome hépato-splénique (19 cas) : 1 à 30 ans (8,7)
pneumonie (5 cas) : 1 à 5 ans (2,6)

Non seulement la morbidité est plus importante pendant l'enfance, mais les manifestations pathologiques y sont également plus sévères. L'une des caractéristiques de l'infection humaine à virus Coxsackie B est la sensibilité très particulière du nouveau-né qui se traduit habituellement par une atteinte pluriviscérale grave. A l'inverse, chez l'adulte et le grand enfant, la maladie n'est que rarement mortelle ou grevée de séquelles. Cette sensibilité élective de la période néo-natale est tout à fait comparable à celle décrite chez l'animal d'expérience, dont la réceptivité décroît rapidement avec l'âge. Plusieurs hypothèses se sont efforcées de l'expliquer :

— Le rôle sensibilisant des hormones corticoïdes a tout d'abord été invoqué, à la suite des résultats expérimentaux obtenus chez la souris adulte (Kilbourne et coll., 141 - 142). Toutefois, ainsi que l'objecte Kibrick (410), l'augmentation des corticoïdes sanguins pendant la période néo-natale n'est que transitoire et ne persiste que peu de jours, alors que la maladie débute souvent plus tardivement.

— Un état de carence immunitaire a été également envisagé, mais il n'est pas toujours démontré par les études sérologiques. Si Bach et coll. (282) n'ont pas trouvé d'anticorps dans les sérums prélevés respectivement le 2e et le 5e jour de l'infection chez deux enfants âgés de 10 jours, par contre Delaney (331) et Rapmund et coll. (467) ont mis en évidence des anticorps neutralisants au taux de 1/320 pour le virus Coxsackie B_4 chez un nouveau-né de 11 jours. Ces anticorps n'ont pu être transmis par voie transplacentaire puisqu'ils n'étaient pas présents dans le sérum de la mère, prélevé le jour de l'accouchement. Bozsick (296) a trouvé des anticorps dès le 1er jour de la maladie chez 7 des 15 nouveau-nés étudiés, le seul cas mortel appartenant au groupe à sérologie négative. Chez le nouveau-né de Steigman et Lipton (500) les anticorps anti-Coxsackie B_3, absents au début de la maladie (6e jour de la vie) sont apparus au taux de 1/16 dès le 11e jour et atteignaient un titre de 1/64 un mois plus tard.

Le passage transplacentaire d'anticorps Coxsackie B de la mère à l'enfant a été démontré (467 - 501), mais il semble peu important. Le taux d'anticorps est beaucoup plus faible dans le sang du cordon que dans le sang maternel (501). Par contre les anticorps poliomyélitiques passent quantitativement du sang maternel à l'enfant.

— Plus récemment Fruhling et coll. (356) ont invoqué un état de tolérance immunologique par blocage d'anticorps.

Influence du sexe. Les résultats sont variables selon les statistiques :

— Sur 25 malades atteints de paralysies pseudo-poliomyélitiques, 4 filles et 21 garçons (Magoffin, 442).

— Au cours d'une épidémie de maladie de Bornholm, à Oxford, en 1951 : 277 malades dont 121 du sexe masculin et 156 du sexe féminin (Warrin, 534).

— Au cours d'une épidémie de méningites aseptiques à Coxsackie B_5, morbidité égale dans les deux sexes, sauf entre 5 et 9 ans où les garçons sont 2 fois plus atteints que les filles (Rubin et coll., 477).

Il semble cependant que l'indice de morbidité soit, en moyenne, légèrement plus élevé dans le sexe masculin, bien que le taux d'infection soit sensiblement le même dans les deux sexes.

Influence du niveau social et économique. Si le taux d'infection est habituellement plus élevé dans les populations déshéritées, par contre l'indice de morbidité semble plus important dans les milieux aisés. Ceci peut s'expliquer, comme pour la poliomyélite, par une immunisation plus précoce et plus fréquente lorsque les conditions d'hygiène sont défectueuses.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Elles concernent des enfants et des adultes jeunes (13 mois à 35 ans), avec une nette prédominance du sexe masculin (9 garçons pour 5 filles). La répartition des différentes manifestations cliniques suivant l'âge est en accord avec les données de la littérature :

Maladie de Bornholm : 6 cas, 10 à 35 ans
myocardites aiguës : 2 cas, 1 an et 2 ans et demi
méningites lymphocytaires : 4 cas, 13 mois à 23 ans
paralysie faciale : 1 cas, 16 ans
stomatite vésiculeuse : 1 cas, 3 ans et demi

Toutes ont évolué vers la guérison.

II. — Caractères des épidémies à virus Coxsackie B

Tous les virus Coxsackie B, mais surtout les sérotypes B_3, B_4 et B_5 peuvent provoquer des épidémies :

Maladie de Bornholm : B_1 à B_5

myocardite aiguë du nouveau-né : B_3, B_4

méningite lymphocytaire : B_2, B_3, B_5

exanthèmes : B_5

affections respiratoires : B_3, B_4, B_5

gastro-entérites : B_3

L'extension de ces épidémies est variable. Elles peuvent se limiter à une petite collectivité : famille (405), école (313), camp (648), home d'enfants (542). Mais parfois elles gagnent une grande partie de la population et s'étendent même à plusieurs pays. Ainsi l'épidémie de pleurodynie, née en 1930 dans les villages de pêcheurs de l'île danoise de Bornholm, s'est étendue au cours des 4 années suivantes, non seulement à tout le Danemark (10.000 cas), mais aussi à la Suède (13.000 cas). Une épidémie massive (40.000 cas) attribuée au virus Coxsackie B_3 a été décrite en Hongrie en 1958 (338 - 339). Ce même virus avait régné dans plusieurs pays d'Europe au cours de l'année 1951.

Comme dans la poliomyélite, l'unité épidémiologique est la famille où le premier cas débute le plus souvent chez un enfant (311). Puis l'infection s'étend progressivement, par groupes d'habitation et de travail, et gagne rapidement une grande partie de la population. Ces épidémies n'ont habituellement pas le caractère explosif qui peut évoquer une source de contamination commune, telle qu'une pollution des eaux de boisson. Surjus (250) décrit le développement d'une épidémie de méningites aseptiques à Strasbourg, au cours de l'été 1956 : les premiers cas furent localisés dans la même rue, puis la maladie gagna progressivement les rues voisines, les quartiers limitrophes, puis toute l'agglomération strasbourgeoise.

Nous soulignerons également le *polymorphisme clinique fréquent de ces épidémies* où se trouvent associés, parfois dans une même famille, des pleurodynies, des méningites lymphocytaires, des myocardites aiguës, des maladies mineures... Les formes inapparentes sont également fréquentes. Au cours d'une épidémie à Mason City, en 1956, Rubin et coll. (477) ont pu isoler le virus Coxsackie B_5 :

chez 66 % des cas de méningites
61 % des cas de maladies mineures
41 % des sujets sains en contact avec les malades
30 % des sujets sains de contrôle (sans contact avec des malades).

Les épidémies peuvent être provoquées par un seul type de virus. Mais plusieurs sérotypes Coxsackie B (482) et même plusieurs entérovirus (400) ont été parfois associés au cours d'une même épidémie.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

A part une petite épidémie (4 cas) de méningites lymphocytaires à virus Coxsackie B_5, survenue dans une pouponnière de la région lorraine à la fin du mois de septembre 1960, nous n'avons observé que des cas sporadiques.

Toutefois, si l'on considère tous les isolements de virus Coxsackie B pratiqués au Laboratoire Central depuis 1960, il est possible d'observer une prédominance de certains types selon les années, évoquant parfois un aspect épidémique. Ainsi si le type B_5 a prévalu pendant les étés 1960 et 1962, seuls des virus Coxsackie B_2 ont été isolés pendant l'été 1961. Les sérotypes B_4 et B_5 étaient associés en 1963.

ANNEE	MOIS	Nombre d'isolements	SEROTYPES
1960	Septembre	1	B_5
	Octobre	2	B_5
	Décembre	1	B_5
1961	Juin	2	B_2
	Juillet	2	B_2
	Septembre	2	B_2
1962	Juillet	4	B_5
	Août	2	B_5
	Octobre	2	B_5
		1	B_3
		1	B_1
	Novembre	1	B_5
1963	Mai	2	B_5
	Juin	2	B_4
	Août	2	B_5
		1	B_4

Isolement des virus Coxsackie B au Laboratoire Central de Microbiologie (Pr. E. de Lavergne) de 1960 à 1963.

DIFFUSION DES VIRUS COXSACKIE B CHEZ L'HOMME SAIN

Dès leur découverte en 1947, des virus Coxsackie ont pu être isolés chez certains sujets, en l'absence de tout symptôme clinique.

Depuis, des études virologiques systématiques, réalisées chez des indivirus sains, ont démontré la fréquence de ces infections inapparentes.

Des enquêtes sérologiques ont permis, par la recherche des anticorps neutralisants, de déterminer le seuil d'immunité de différentes populations.

Tous ces travaux ont confirmé la large diffusion de ces virus dans le monde et ont permis de connaître les différents facteurs qui peuvent l'influencer.

I. — Etudes virologiques

Grâce à ces études virologiques, il a été possible de définir les principaux caractères épidémiologiques de la diffusion des virus Coxsackie B chez l'homme sain.

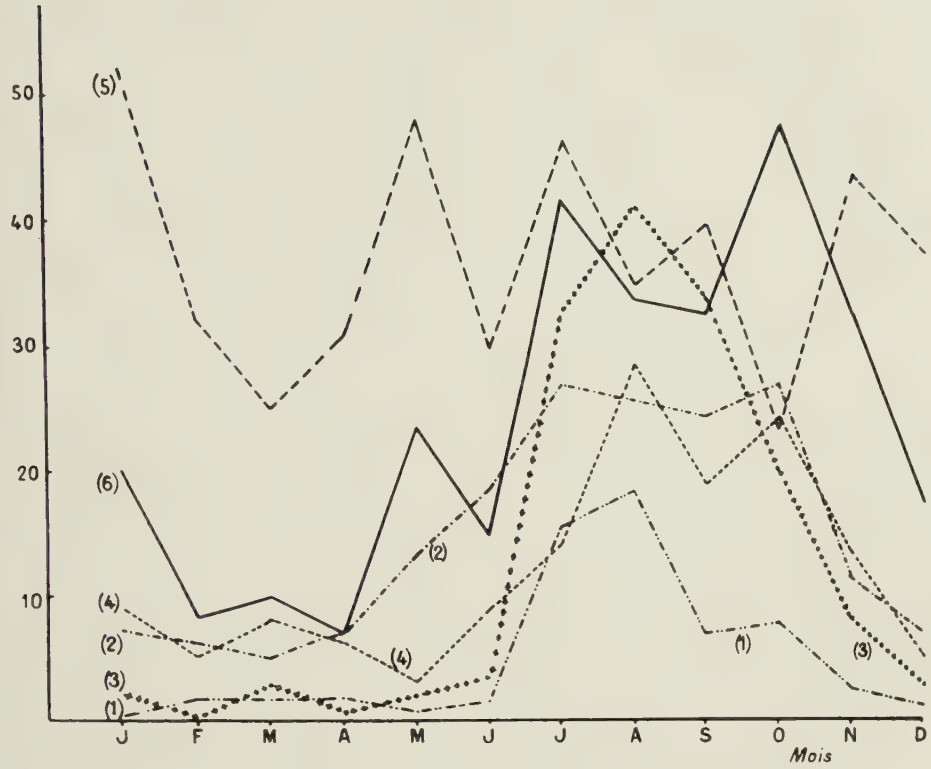
Distribution géographique. Des virus Coxsackie B ont pu être isolés dans le monde entier, ainsi que le montre un tableau emprunté à Gelfand (587) établi d'après des observations publiées dans la littérature et des données personnelles de l'auteur. D'après ce tableau, les types B_1, B_3 et B_4 sont les plus répandus.

Mais certaines statistiques montrent que l'incidence des entérovirus non poliomyélitiques est plus élevée dans les pays tropicaux et subtropicaux. Ramos Alvarez et Sabin (214 - 653) ont ainsi isolé ces agents chez 5,2 % des enfants âgés de moins de 4 ans à Cincinnati et, respectivement, chez 15,6 % et 10 % des enfants du même âge à Mexico et à Vera Cruz.

Variations saisonnières. Dans les pays tempérés, les virus Coxsackie B, comme tous les entérovirus, sont plus fréquemment isolés chez les sujets sains pendant les mois d'été et d'automne.

Honig et coll. (601) et Blattner (553) ont pu isoler sur cellules rénales de singe 77 entérovirus (dont 29 Coxsackie, 33 E.C.H.O. et 15 Poliovirus) à partir de 1.558 prélèvements de selles d'enfants sains, pendant une période de 24 mois, de 1951 à 1953, en Virginie : 92 % de ces agents ont été découverts entre juin et octobre avec un pic d'incidence maxima au mois d'août.

Des résultats comparables ont été obtenus par Gelfand (586) en Louisiane. Sur 3.806 examens de selles d'enfants normaux pratiqués pendant



Etude de la fréquence avec laquelle sont isolés les entérovirus à partir des selles ou des eaux d'égoûts à différentes périodes de l'année.

Courbes établies par SOHIER (232) d'après les chiffres donnés par GELFAND, 1961, et des observations personnelles.

(1) U. S. A. New Virginia : HONIG, 1956.
(2) Louisiane : GELFAND, 1959.
(3) Enquête dans 6 états des Etats-Unis : MELNICK, 1954.
(4) Michigan : BLOOM, 1959.
(5) Congo (Léopoldville) : VANDEPUTTE, 1960.
(6) France, région du Sud-Est : SOHIER et GAUDIN (non publié).

29 mois, de 1954 à 1956, les isolements ont été plus fréquents de juin à octobre, mais avec un pic en juillet.

En Angleterre, GAMBLE et coll. (585) ont examiné 2.084 selles d'enfants normaux : 91 % des virus Coxsackie isolés furent découverts de juillet à décembre avec une incidence maxima en septembre pour les Coxsackie A et en octobre pour les Coxsackie B.

En France, la distribution saisonnière est semblable. SOHIER, GAUDIN et CHAIX (232 - 558), au cours de l'étude de 803 examens de selles en 2 ans,

ont cependant observé un léger décalage vers le début de l'hiver, dans le Sud-Est du pays. La plupart des isolements ont été réalisés de juin à novembre, le pourcentage de positivité étant maximum en octobre.

Mais si cette prédominance estivo-automnale est nettement marquée dans les pays tempérés, par contre dans les pays à climat chaud la répartition des isolements entre les différents mois de l'année est beaucoup plus régulière. Ainsi la courbe d'incidence obtenue par VANDEPUTTE (680), au Congo, est très différente de celles observées en zone tempérée : de 1957 à 1958, des entérovirus ont été isolés toute l'année avec seulement de faibles variations d'un mois à l'autre.

Les courbes traduisant les résultats de ces différentes études ont été établies par SOHIER (232). Nous les avons reproduites ci-joint. Sur ce graphique figurent également deux courbes qui représentent les pourcentages d'isolements des entérovirus à partir des eaux d'égoûts au cours des différents mois de l'année (Travaux de BLOOM, 554 - MELNICK, 640).

Pour certains auteurs, cette répartition saisonnière s'expliquerait par une plus grande exposition à la contagion, par des contacts plus fréquents pendant les mois chauds ou sous les climats tropicaux. D'autres envisagent une relation possible entre la fréquence des infections entérovirales et le degré d'humidité de l'atmosphère (HEMMES, 597) sans qu'aucune explication ne soit actuellement donnée.

Variations selon l'âge. La répartition des virus Coxsackie dans une population varie en fonction de l'âge. La plupart des enquêtes confirme leur diffusion plus élevée chez les enfants, surtout chez les enfants d'âge préscolaire.

Au cours d'une épidémie de méningites aseptiques causée par le virus Coxsackie B_5, CHIN et coll. (311) ont recherché le virus dans les selles des sujets sains en contact avec les malades. Les pourcentages d'isolements, suivant l'âge, étaient les suivants :

78 % de 0 à 4 ans
64 % de 5 à 19 ans
40 % au-dessus de 20 ans.

GAMBLE (585) a examiné 2.084 selles d'enfants normaux de 0 à 5 ans. Le taux d'isolement des virus Coxsackie, très faible pendant la première année de la vie, était élevé chez les enfants de 2 et 3 ans, mais s'abaissait au cours de la 4^e et 5^e année.

Parmi les virus Coxsackie isolés en Belgique par THIRY et coll. (678) en 1961 et 1962, 90 % proviennent d'enfants de moins de 14 ans (dont 27 % chez des nourrissons de moins de 6 mois).

Distribution géographique des isolements des différents types de virus Coxsackie B
D'après GELFAND (587) : The Occurrence in Nature of the Coxsackie and ECHO Viruses.

Type de Virus	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6
U.S.A.	+	+	+	+	+	+
Canada	+	+	+	+	+	
Mexico	+	+	+		+	
Guatemala						
Costa Rica			+	+		
Brésil	+		+	+		
Europe occidentale	+	+	+	+		
U.R.S.S.	+		+	+		
Japon	+					
Inde	+		+		+	
Israel	+		+	+	+	
Egypte	+	+	+	+	+	
Congo Belge		+	+	+	+	
Union Sud Africaine	+	+	+	+	+	
Hawaï		+	+		+	
Australie	+	+	+	+	+	
Philippines	+		+	+	+	+
Autres pays	Arabie Saoudite	Arabie Saoudite	Thaïlande			

Vandeputte (680), au Congo, a isolé des entérovirus chez des enfants de 0 à 2 ans, de 2 à 6 ans et chez des adultes, respectivement dans 30 %, 48 % et 6 % des cas.

Les études réalisées par Rivadeneira (660), Cook (565) et Rosen et coll. (475) confirment la fréquence des infections inapparentes, ainsi que l'importance et la rapidité de la diffusion des virus Coxsackie B dans des collectivités infantiles.

L'incidence plus élevée de l'infection pendant l'enfance peut s'expliquer par des contacts plus étroits, favorisant la contamination d'un enfant à l'autre et la dissémination de l'agent infectieux, mais aussi, sans doute, par l'absence d'une immunité acquise antérieure, comme semblent le prouver les études sérologiques.

Variations selon le sexe et la race. Ces facteurs agissent peu sur la diffusion des virus Coxsackie. Le taux d'infection diffère peu entre les deux sexes, dans les différentes statistiques. Il est parfois légèrement plus élevé dans le sexe masculin. Gamble (585) signale un pourcentage d'isolement de 73 % chez les garçons et de 56 % chez les filles.

Au cours d'une étude réalisée dans une nursery, Bell et coll. (552) ont trouvé un pourcentage d'infections à entérovirus légèrement supérieur chez les enfants de race noire (15,5 %) comparativement aux enfants de race blanche (12,1 %).

Mais selon Gelfand (587) ces facteurs n'interviennent que dans la mesure où les facteurs sociaux (activité sociale - état sanitaire - habitation - éducation...) qui leur sont associés favorisent la dissémination de l'infection.

Variations selon le niveau social et économique. Les infections à virus Coxsackie, comme toutes les infections à entérovirus, sont plus fréquentes dans les populations de bas niveau socio-économique.

Ainsi des virus Coxsackie et E.C.H.O. ont été isolés à partir de 2,1 % et 6,6 % des enfants sains habitant dans les quartiers pauvres de deux cités américaines. Par contre, dans les quartiers où les conditions sanitaires étaient meilleures, les pourcentages d'isolements n'ont été respectivement que de 1,3 % et 0,6 % (Melnick, 183).

Honig (601) en Virginie, au cours d'une enquête de 24 mois portant sur 136 enfants appartenant à deux groupes socio-économiques distincts, a isolé des entérovirus (77 souches dont 9 Coxsackie) chez 8 % des enfants du groupe le plus déshérité et seulement chez 3 % des enfants provenant de milieux plus aisés.

Des résultats comparables ont été obtenus par Gelfand (586) en

Louisiane. Ils s'expliquent à la fois par la promiscuité et les mauvaises conditions d'hygiène qui favorisent la dissémination de l'infection.

II. — Enquêtes sérologiques

La recherche systématique des anticorps neutralisants est un excellent moyen pour déceler les infections inapparentes et étudier la diffusion d'un virus dans de larges fractions de population. Par contre, les anticorps fixant le complément sont moins valables en raison de la fréquence des réponses hétérotypiques, mais aussi parce qu'ils disparaissent rapidement et ne permettent de découvrir que les infections récentes.

Ces enquêtes ont confirmé la distribution mondiale des virus Coxsackie :

— Au cours d'une étude de 2 ans (1955-1956) dans le Connecticut, Davis et coll. (569) ont décelé des anticorps neutralisants pour les virus Coxsackie A_9, B_1 à B_4 et E.C.H.O.$_{2, 5, 6, 9}$.

— Henigst (598), en Louisiane du Sud, a examiné les sérums de 482 personnes d'âges différents. Les anticorps neutralisant les virus Coxsackie A_9, B_2 et B_4 étaient plus répandus que les anticorps anti B_1, B_3 et B_5.

— Horstmann et Kraft (602) ont trouvé à Tahiti des anticorps fixant le complément pour les types A_1, A_4, B_1 et B_3.

— Castelli et coll. (557) : en Italie, anticorps pour les virus Coxsackie B_1, B_2, B_3, mais non pour le type B_4.

Nous citerons également les études plus anciennes de Melnick et Ledinko (642) en Caroline du Nord et de Stanley et coll. (674). Ces derniers ont trouvé des anticorps Coxsackie A et B non seulement dans des pools de sérums fournis par le service de transfusion de la Croix Rouge de Sydney, mais aussi dans des sérums provenant de différentes parties de l'Australie, de Nouvelle-Guinée, Corée, îles Fidji, îles Salomon. Les courbes établies d'après ces résultats montrent que les virus Coxsackie A et B sont très répandus en Australie et dans le Pacifique occidental.

Elles ont mis en évidence la répartition inégale des anticorps suivant l'âge dans une même population.

— Selon Melnick et Ledinko (642), plus de 80 % des enfants possèdent des anticorps anti-Coxsackie après la naissance. Cette proportion s'abaisse à 14 % à l'âge de 1 an et s'élève ensuite pour atteindre, vers 7 ans, les mêmes chiffres que chez l'adulte (80 %).

— Gelfand (586) en Louisiane signale l'absence d'anticorps pour le type B_1 chez les enfants de moins de 6 ans. Par contre ceux-ci sont présents chez 36 % des enfants de 7 à 9 ans et chez 54 % des enfants de 10 à 19 ans.

— Cook et Smith (564), au cours d'une recherche systématique d'anticorps Coxsackie B_1 à B_5 chez des sujets sains, ont trouvé des pourcentages de positivité plus élevés chez les adultes pour tous les sérotypes. Non seulement des anticorps sont présents chez 82 à 90 % des adultes, mais 44 % de ceux-ci possèdent simultanément plusieurs types d'anticorps.

— Davies et coll. (569) ont étudié les anticorps Coxsackie B dans une population du Connecticut. Ceux-ci étaient répartis, suivant l'âge, dans les proportions suivantes :

Type	% de positivité en-dessous de 15 ans	% de positivité chez les adultes
B_1	11 %	6 %
B_2	33 %	38 %
B_3	23 %	40 %
B_4	27 %	61 %
A_9	20 %	49 %

Ainsi le pourcentage plus élevé des anticorps chez l'adulte s'oppose à la diffusion plus importante du virus chez l'enfant. Il est donc possible qu'au contact du virus l'organisme acquiert une immunité qui le protège contre une infection ultérieure en s'opposant à une nouvelle prolifération virale. Toutefois cette immunité n'est valable que pour le sérotype en cause.

Ces enquêtes sérologiques permettent, parfois, de prévoir l'éclosion des épidémies.

Il est en effet probable que l'état immunitaire d'une population joue un rôle important dans la survenue des épidémies. L'infection ne pourra, en effet, s'étendre que s'il existe un nombre suffisant de sujets réceptifs, donc non immunisés, en général à la faveur de nouvelles naissances.

Au terme de cette étude, après avoir envisagé successivement l'infection-maladie et l'infection inapparente à virus Coxsackie B, nous soulignerons la similitude de leurs aspects épidémiologiques et leur association

fréquente, au même moment, dans la même population. Pourquoi, lors des épidémies, certains sujets font-ils une maladie apparente, alors que chez d'autres l'infection reste cliniquement latente ? Des facteurs individuels interviennent sans doute. Fatigue, traumatisme, déséquilibre endocrinien et d'autres modifications du « terrain » ont été invoqués, au cours de la poliomyélite, comme autant d'éléments capables de favoriser l'éclosion de la maladie. Il est probable que de tels facteurs interviennent également dans le déterminisme des maladies à virus Coxsackie B. Mais il est également possible qu'à la faveur de certaines mutations, la virulence de l'agent infectieux se trouve modifiée et, selon les cas, détermine une atteinte plus ou moins sévère.

De plus le développement d'une maladie chez un individu ou d'une épidémie dans une population, est vraisemblablement soumis aux lois qui régissent les différentes associations virales que nous allons envisager.

CHAPITRE II

Des infections virales mixtes ont été fréquemment décrites, en particulier dans le cadre des entérovirus, soit au sein d'une même population, l'agent infectieux variant d'un sujet à l'autre, soit chez un même individu.

Les résultats de telles associations sont variables :

— les diverses infections peuvent se développer parallèlement et indépendamment les unes des autres.

— mais elles peuvent également se trouver modifiées les unes par les autres, soit dans le sens d'une aggravation, soit au contraire dans le sens d'une inhibition. Selon le cas, on parle de « symbiose » ou « d'interférence ».

Les associations entre les virus Coxsackie et les virus poliomyélitiques ont été particulièrement étudiées.

RAPPORTS DES VIRUS COXSACKIE B AVEC LES VIRUS POLIOMYÉLITIQUES

Le problème des rapports des virus Coxsackie B avec la poliomyélite s'est posé dès leur découverte à partir des selles de deux enfants paralysés.

Très proches des virus poliomyélitiques par leurs propriétés biologiques et leur épidémiologie, ils ont pu être considérés, par certains auteurs, comme des virus « pseudo-poliomyélitiques » (451). Mais les nombreux travaux qui leur ont été consacrés, tant sur le plan expérimental qu'épidémiologique, ont montré que, si les virus du groupe A sont fré-

quemment associés aux virus poliomyélitiques, par contre il semble exister un antagonisme entre les virus Coxsackie B et les poliovirus.

A. — Etude expérimentale de l'interférence entre les virus Coxsackie B et les virus poliomyélitiques

Cette interférence a pu être démontrée, expérimentalement, chez l'animal et en culture de tissus.

CHEZ L'ANIMAL

Les expériences réalisées *chez la souris* sont particulièrement concluantes.

Levaditi et Vaisman (623), après avoir inoculé simultanément un virus Coxsackie B et une souche poliomyélitique Lansing, par voie intracérébrale, à de jeunes souriceaux, ont constaté que le virus poliomyélitique s'effaçait dès le premier passage et disparaissait complètement après 4 ou 5 passages, cédant la place au virus Coxsackie. Ils ont ainsi démontré qu'il n'existait pas de symbiose entre les deux virus, mais au contraire une interférence, le virus Coxsackie faisant disparaître le poliovirus.

De même Dalldorf (50), en 1951, a montré qu'en infectant des souriceaux avec un virus Coxsackie B, 4 à 10 jours avant l'inoculation d'une souche Lansing, ceux-ci devenaient partiellement résistants à l'infection poliomyélitique. L'interférence se traduit par des paralysies moins fréquentes, une survie prolongée et un abaissement du taux de mortalité. Cet effet est toutefois moins marqué si on utilise des souris plus âgées et si l'on diminue l'intervalle de temps qui sépare les deux infections.

L'année suivante, Stanley (673) confirme ces résultats sur de jeunes souris adultes. Etudiant comparativement l'action de mélanges poliovirus-Coxsackie A et poliovirus-Coxsackie B sur ces animaux inoculés par voie intracérébrale, il constate que si le temps d'incubation normal de la poliomyélite est raccourci avec le premier mélange, par contre il est allongé en présence de virus Coxsackie B. De plus, dans ce dernier cas, les paralysies sont moins fréquentes et la mortalité plus faible.

Des résultats comparables ont été obtenus par Sulkin, Wallis et Murphy (675) avec deux virus Coxsackie B (souche Nancy et Ohio-R), par Domok (571 à 574) avec un virus Coxsackie B_1.

Par contre les expériences effectuées *chez le singe* sont moins démonstratives. Howitt et Nichols (121) ne purent obtenir une interférence en inoculant simultanément des virus Coxsackie B et poliomyélitiques à des

singes rhésus. Mais cet échec peut s'expliquer par la résistance naturelle de ces animaux à l'égard des virus Coxsackie B. De même, les expériences de Stanley (673) se révélèrent non concluantes. Melnick et Kaplan (641) ont infecté des chimpanzés par voie parentérale avec des mélanges associant, de façon variée, des virus poliomyélitiques et différents virus Coxsackie appartenant aux deux groupes A et B. Bien que les animaux n'aient pas présenté de maladies apparentes, toutes ces infections se sont développées parallèlement ainsi que le montre l'étude sérologique, puisque des anticorps neutralisants sont apparus pour tous les sérotypes utilisés.

EN CULTURE DE TISSUS :

Un antagonisme réciproque a pu être observé entre les virus Coxsackie B et les poliovirus par Dalldorf (51). Si une culture infectée avec l'un de ces virus est lavée, puis mise en présence de l'autre agent, celui-ci ne se multiplie pas ; valable pour les virus Coxsackie B, cette interférence n'a pu être obtenue avec des virus du groupe A.

Sacerdote de Lustig (665 - 666) a décrit une résistance partielle des cultures de cellules Hela au virus poliomyélitique, souche Brunhild, lorsqu'elles sont infectées 24 heures auparavant avec un virus Coxsackie B_4. Cette résistance se traduit par un retard dans l'apparition de l'effet cytopathogène qui, habituellement précoce, ne se manifeste qu'au bout de 3 jours. De plus la destruction de la nappe cellulaire est moins rapide. Ce virus Coxsackie interfère également, mais à un degré moindre, avec la souche MEF-I. On n'observe pas d'interférence si les deux virus sont inoculés à la culture simultanément, ou si le virus Coxsackie est administré après le virus poliomyélitique.

En étudiant l'interférence entre les 3 types de poliovirus et certains virus Coxsackie B (B_2-B_3-B_4) inoculés successivement en culture de tissus, Lycke (634) a montré que la multiplication du deuxième virus dépendait non seulement de la concentration initiale du premier virus, mais également de sa propre concentration et de l'intervalle de temps qui sépare les deux inoculums.

Ainsi se trouve démontrée sur le plan expérimental, l'interférence entre les virus Coxsackie B et les virus poliomyélitiques. Sous l'influence du virus Coxsackie, la poliomyélite expérimentale de la souris évolue moins sévèrement et la multiplication du poliovirus se trouve limitée. Cet antagonisme est parfois réciproque en culture du tissu. Mais sa mise en évidence, chez l'animal comme en culture in vitro, dépend de différents facteurs, en particulier la voie d'inoculation, l'intervalle de temps qui sépare les deux infections et la concentration des suspensions virales.

Par contre non seulement les virus Coxsackie A ne limitent pas l'action pathogène des virus poliomyélitiques, mais ils semblent même intensifier leur virulence. Des singes inoculés par voie intracérébrale ou intra-musculaire avec un poliovirus de type I atténué, et 5 jours plus tard avec une souche de virus Coxsackie A_{14} ou A_7, adaptée au singe, présentent fréquemment des paralysies, alors qu'aucun de ces virus, pris isolément, n'est capable d'induire de paralysies chez ces animaux (Dalldorf et Weigand. 567 bis).

B. — Arguments cliniques et épidémiologiques

Plusieurs observations plaident en faveur d'une telle interférence chez l'homme.

Sur le plan individuel, il est très rare d'observer la présence simultanée d'un virus Coxsackie B et d'un virus poliomyélitique. Des associations poliovirus type III - Coxsackie B_4 et poliovirus type III - Coxsackie B_5 sont signalées par Gelfand (587).

Mais, dans certains cas, ces deux virus ont été isolés successivement à des intervalles de temps très rapprochés, et l'étude sérologique a confirmé les deux infections. Chez un enfant de 9 mois présentant une maladie fébrile avec exanthème, Lerner (428) a pu isoler un virus Coxsackie B_3 à partir de la gorge et un virus poliomyélitique de type III dans les selles, lors de deux examens différents. L'étude sérologique a démontré la double infection par la mise en évidence d'un taux croissant d'anticorps pour les deux virus (Coxsackie B_3 : 1/10 à 1/32 - Poliovirus III : 1/10 et 1/128).

De même, il est parfois possible, chez un sujet dont l'infection Coxsackie B est démontrée par les études virologique et sérologique, de déceler une infection poliomyélitique, sinon contemporaine, du moins récente, par la mise en évidence non seulement d'une ascension des anticorps neutralisants, mais aussi par la présence d'anticorps fixant le complément. Thieffry (516) signale ainsi un cas où l'épidémiologie et la clinique étaient en faveur d'une poliomyélite. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé le 18e jour de la maladie. L'étude sérologique mit en évidence une ascension des anticorps neutralisants homologues, mais aussi une ascension d'anticorps neutralisants et fixant le complément pour le virus poliomyélitique épidémique. De même Magoffin (442) signale des anticorps neutralisants pour les 3 types de poliovirus, mais surtout une ascension, puis une baisse des anticorps fixant le complément pour le type III, chez un garçon de 8 ans atteint de paralysies, et dont l'infection Coxsackie B_2 était démontrée par l'isolement du virus dans les selles et par l'étude sérologique.

Les paralysies et les autres symptômes observés dans ces conditions sont habituellement peu sévères et évoluent vers la guérison. Toutefois CHAPTAL et coll. (307) ont décrit une forme clinique grave avec quadriplégie et paralysies des muscles respiratoires. L'évolution ne fut pas mortelle, mais grevée d'importantes séquelles. Un virus poliomyélitique fut isolé dans les selles et l'étude sérologique montra une ascension d'anticorps fixant le complément pour les virus Coxsackie B. Dans le cas présent, l'association des deux infections ne semblent pas avoir déterminé un affaiblissement du pouvoir pathogène.

Mais en réalité la valeur de ces observations sérologiques doit être discutée, en raison de la fréquence des réponses hétérotypiques (soit par rappel anamnéstique, soit par communauté antigénique) que nous avons déjà évoquées antérieurement lors de l'étude du pouvoir antigénique des virus Coxsackie B.

De plus, si la coexistence d'un virus poliomyélitique et d'un virus Coxsackie B chez un même individu semble peu fréquente, ceci peut s'expliquer de plusieurs façons :

— d'une part, parce qu'il est difficile techniquement de mettre en évidence deux entérovirus dans un même inoculum. La neutralisation de l'effet cytopathogène commun nécessite un mélange des deux antisérums correspondants, mais il est pratiquement impossible d'essayer toutes les combinaisons des antisérums de tous les entérovirus cytopathogènes. Le recours à la méthode des plages, à des milieux de cultures différentiels ou à l'animal sensible pourra alors être du plus grand intérêt. De plus, en culture de tissus comme chez l'animal, l'un des virus peut inhiber le développement de l'autre. Seule l'étude sérologique permettra alors de déceler les deux infections.

— Mais il est également possible que la présence simultanée de deux virus chez un même sujet détermine un affaiblissement du pouvoir pathogène de l'un et de l'autre et se traduise uniquement par une infection latente, donc non connue. Cette infection mixte pourrait même s'opposer à une production d'anticorps et ne se manifesterait ainsi par aucun signe clinique, ni biologique.

Tout ceci n'est qu'hypothèse. De telles infections mixtes sont peut-être plus fréquentes qu'elles ne le paraissent. Difficiles à déceler, elles sont encore fort mal connues. Mais leur rareté même est en faveur d'une interférence.

Si elle est difficile à évaluer sur le plan individuel, l'interférence entre virus Coxsackie B et virus poliomyélitiques est mieux démontrée par l'étude des données épidémiologiques.

Sur le plan de la collectivité cet antagonisme est plus évident.

Depuis longtemps on a signalé la rareté ou l'absence des cas de poliomyélite lorsque prédominent des infections à virus Coxsackie B. La fréquence de la poliomyélite fut particulièrement basse en Suède pendant l'année 1931. Or cette année-là connut une vaste épidémie de maladie de Bornholm (610 bis). La morbidité poliomyélitique fut également très faible, en 1951, dans les divers pays d'Europe atteints par des épidémies de pleurodynie. Domok (339 - 577) a décrit en Hongrie, en 1958, de nombreuses infections attribuées au virus Coxsackie B_3 (40.000 cas). L'incidence de la poliomyélite fut, à cette époque, la plus faible qui ait été enregistrée depuis 20 ans. Un seul cas de poliomyélite fut hospitalisé pendant l'épidémie de méningites lymphocytaires (Coxsackie B_2 et B_4) qui a touché l'agglomération strasbourgeoise de juin à novembre 1956 (482). Des observations comparables sont rapportées par différents auteurs (326 - 357).

Un graphique emprunté à Dalldorf (326) démontre particulièrement bien la relation inverse qui existe entre la fréquence des isolements Coxsackie B et l'incidence des cas de poliomyélite dans une région donnée.

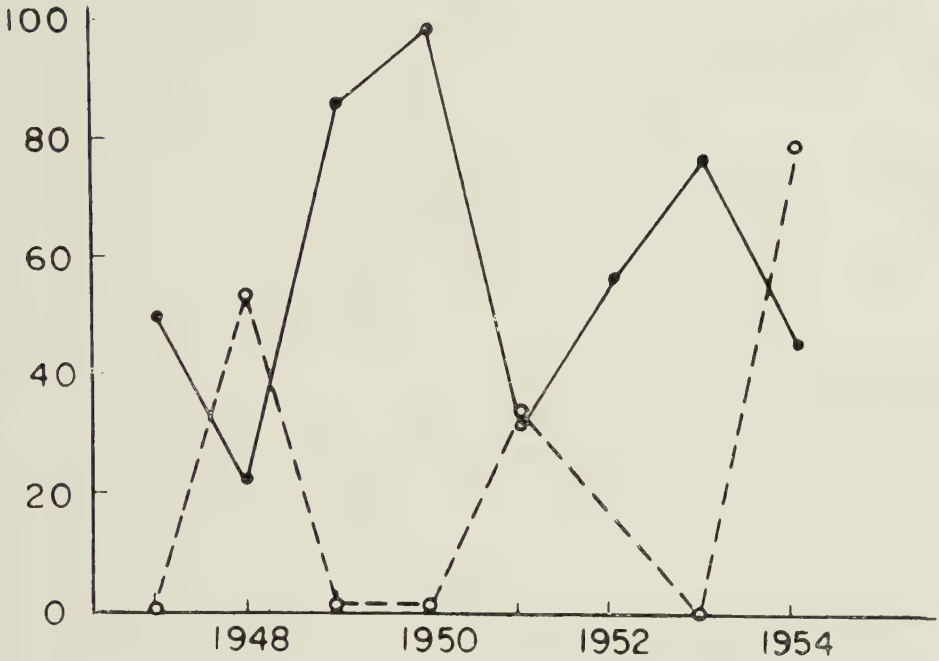
Mais parfois pleurodynies et poliomyélites se succèdent au cours de la même année. On observe alors fréquemment un retard dans l'apparition des cas de poliomyélite. Ainsi en Hollande, en 1951, les infections à virus Coxsackie B dominèrent de mai à août, mais l'épidémie de poliomyélite ne connut son acmé qu'en octobre, alors que les virus Coxsackie avaient pratiquement disparu. Dalldorf et coll. (567), en 1954, ont également observé un retard dans l'apparition des cas de poliomyélite à New-York, à la suite d'infections à virus Coxsackie B.

Toutefois des épidémies mixtes, associant simultanément plusieurs entérovirus, ont été décrites :

— Johnson et coll. (399 - 400) signalent à Hawaï, d'avril à octobre 1958, une épidémie de poliomyélites et de méningites lymphocytaires au cours de laquelle plusieurs entérovirus étaient associés : Poliovirus 1, Coxsackie B_2, B_5 et A_9, E.C.H.O.9 et 15. Plusieurs de ces virus avaient déjà été isolés, les années précédentes, chez des cas sporadiques. Selon les auteurs, l'épidémie ne serait donc pas due à l'introduction simultanée de ces différents entérovirus dans la région, mais plutôt à une exaltation concomittante et inexpliquée de leur pouvoir pathogène.

— Chin et coll. (311) décrivent une épidémie de poliomyélite dans l'Iowa, en 1959, qui évolua en 2 phases : au cours de la première, seul le poliovirus 1 fut isolé ; au cours de la seconde, il était associé aux virus Coxsackie B_2 et E.C.H.O.7.

— De même Selwyn et Howitt (671) ont observé la présence de



– – – Pourcentage des virus Coxsackie B isolés à New York de 1947 à 1954.
——— Nombre de cas de poliomyélite (divisé par 30)
D'après G. DALLDORF (326).

plusieurs entérovirus (polio III, Coxsackie B_4, E.C.H.O.$_{15}$) dans une même famille.

Particulièrement intéressantes sont les études réalisées à la suite de la vaccination de certaines collectivités par des souches poliomyélitiques vivantes et atténuées. Elles permettent de suivre la progression des souches de virus vaccin dans la population et d'étudier leurs relations avec les souches « sauvages » d'entérovirus. Nous citerons en particulier les travaux de GELFAND et coll. (589 - 590), LEPINE et coll. (630 - 631), SABIN (664), RAMOS ALVAREZ et coll. (652).

On observe fréquemment une inhibition de la souche vaccin par des souches sauvages poliomyélitiques, E.C.H.O. ou Coxsackie, en particulier par des virus Coxsackie B (589 - 590 - 631). Mais le phénomène inverse peut également être observé et c'est alors la souche sauvage qui cède la place au virus vaccin. LEVINE (631) signale le cas d'un enfant (non vacciné, mais en contact avec des sujets vaccinés) chez lequel un virus Coxsackie B_2

avait été isolé avant la période de vaccination. Quatorze jours plus tard, le virus Coxsackie avait disparu, mais le poliovirus vaccin de type III était excrété. Le virus Coxsackie préexistant ne semble donc pas avoir interféré avec le développement du virus poliomyélitique dans le tractus digestif de l'enfant. De même GELFAND (587) rapporte le cas d'un enfant de 5 ans qui fut vacciné avec un poliovirus I, alors qu'il était infecté avec un virus Coxsackie B_5. Celui-ci disparut après la vaccination, laissant la place au virus-vaccin. Des résultats comparables ont été décrits avec des souches naturelles poliomyélitiques (576) et E.C.H.O. (608). DOMOK et coll. (576) ont observé une disparition des poliovirus sauvages dans la population après une vaccination orale avec des souches poliomyélitiques atténuées.

Plus rarement virus « vaccin » et « sauvage » coexistent dans le tractus intestinal du même individu. D'après LEVINE (630), un enfant vacciné excrétait simultanément un poliovirus 1 et un virus Coxsackie B_5 trois semaines après la vaccination. A la même date, un autre enfant éliminait également un virus Coxsackie B et les poliovirus I et III.

En réalité bien des inconnues subsistent dans l'explication de ces phénomènes d'interférence. Si leur mécanisme d'action est indépendant de tout processus immunologique, il est encore discuté et incertain.

La destruction ou le blocage par le premier agent de récepteurs cellulaires, s'opposant ainsi à la pénétration du deuxième virus a été invoqué, et paraît parfois trouver confirmation. Mais si ce processus semble valable entre les différents sérotypes de virus Coxsackie B, il n'a jamais été démontré entre les 3 groupes d'entérovirus.

Restent l'Interféron et les substances apparentées. Il est possible que l'inhibition de la multiplication virale se produise à l'intérieur même de la cellule, par blocage de certains métabolites intrinsèques intervenant sur la synthèse virale, ce blocage pouvant être réalisé par l'intermédiaire d'un produit non spécifique, l'Interféron, élaboré lors d'une première infection virale. Ainsi que l'ont montré Ho et ENDERS (600), la présence d'Interféron dans des cultures infectées par un virus poliomyélitique se traduit par un effet inhibiteur sur la multiplication des virus poliomyélitiques, vaccinal, herpétique et E.C.H.O. Nous n'avons connaissance d'aucun résultat concernant les virus Coxsackie B.

AUTRES ASSOCIATIONS DES VIRUS COXSACKIE B

Nous citerons brièvement quelques autres associations relevées dans la littérature.

Associations virales. Elles ont été décrites avec :

— *des virus Coxsackie A.*

Infection mixte par les virus Coxsackie B_3 et A_4 lors d'une contamination accidentelle de laboratoire (JOHNSSON, 401).

Au cours d'une même épidémie (JOHNSON, 400).

WEIGAND (685) : interférence entre les virus Coxsackie B_1 et B_5 et le virus Coxsackie A_{14} chez de jeunes souris adultes.

Isolement de virus Coxsackie B_5 et A_9, au cours d'une même épidémie de méningite aseptique (455 bis).

— *des virus E.C.H.O. :* (JOHNSSON, 403 - CHIN, 561).

— *le virus grippal B :* Evolution parallèle de 2 épidémies, l'une attribuée au virus Coxsackie B_4, l'autre au virus grippal B (DALLDORF, 51).

— *une infection ourlienne :* A B E (277) - LEPOW (422). Dans les deux cas, virus Coxsackie B_5.

— *des virus neurotropes :* LEVADITI et coll. ont recherché la possibilité d'une symbiose ou au contraire d'un antagonisme entre le virus Coxsackie B encéphalitogène et d'autres virus neurotropes, dans le névraxe de souriceaux nouveau-nés. La symbiose entre les virus Coxsackie B et les virus du louping-ill (620), de la fièvre aphteuse neurotrope (625), de la rage fixe (629) et de l'herpès (627) persiste pendant plusieurs passages successifs. Elle n'est que transitoire avec les agents de la lymphogranulomatose inguinale (626) et de la maladie de Theiler (624). Il existe un antagonisme marqué entre les virus Coxsackie B et les virus de la vaccine (622), de la poliomyélite (623), de l'encéphalite équine de l'Est (619) et de la rage négrigène (628).

Nous mentionnerons également la possibilité d'une *association entre différents sérotypes Coxsackie B* chez un même individu : MAGOFFIN (442) B_1 et B_5 - ARTENSTEIN (550), B_2 et B_5, ou au cours d'une même épidémie : SACREZ (482), B_2 et B_4. Une interférence en culture de tissus a été démontrée par CROWELL et SYVERTON, entre le sérotype B_3 et les virus B_1 et B_5 (46).

Quelques associations bactériennes ont également été signalées :

— L'isolement d'un *streptocoque β hémolytique* accompagné d'une ascension du taux des antistreptolysines a été décrit à plusieurs reprises au cours d'une infection Coxsackie B : GILLETT (368) - BRODIE (299).

— L'infection avec une souche non pathogène de *staphylocoque blanc*

augmente la résistance du souriceau à l'égard d'une infection léthale par le virus Coxsackie B_1 (Schaffer, 224).

— Association avec des *entérobactéries* au cours de gastroentérites (654).

Quelle signification et quel rôle attribuer à ces associations ? S'agit-il d'un simple effet du hasard ou l'une des infections favorise-t-elle la survenue de l'autre ? Dans l'état actuel de nos connaissances, il nous est impossible de répondre. Mais il est probable que certaines d'entre elles jouent un rôle important tant sur le plan épidémiologique que clinique.

CHAPITRE III

SOURCES, TRANSMISSION ET DIFFUSION DANS L'ORGANISME DES VIRUS COXSACKIE B

I. — Sources de virus

Qu'il soit malade, atteint d'une infection inapparente ou simple porteur sain, l'homme représente la principale source des virus Coxsackie.

Mais il est également possible de mettre en évidence ces virus dans l'environnement de l'homme.

L'HOMME, SOURCE DE VIRUS COXSACKIE

Les virus Coxsackie B ont pu être isolés, chez l'homme, à partir de différents prélèvements cliniques, selles, lavages de gorge, liquide céphalo-rachidien, plus rarement urines, sang, sécrétions nasales, liquide péricardique, biopsies musculaires. De plus, des autopsies pratiquées chez des enfants nouveau-nés ont démontré leur présence au niveau de nombreux tissus.

Mais seules nous intéressent ici les voies de dissémination du virus, c'est-à-dire les selles, le pharynx, les urines, les sécrétions nasales et conjonctivales.

Les matières fécales représentent la principale voie d'élimination des virus Coxsackie, chez les sujets sains comme chez les malades. Le virus peut être décelé dans les selles dès l'apparition des premiers signes cliniques et parfois pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois. Chez une enfant hospitalisée pour paralysie du membre inférieur gauche, nous avons pu isoler un virus Coxsackie B_5 dans les selles dès le 3^e jour de la

maladie, mais également 2 mois et 3 mois après le début des signes cliniques.

Les virus Coxsackie B sont moins fréquemment isolés au niveau *du pharynx*. L'excrétion par cette voie est plus courte et ne dépasse habituellement pas une semaine.

Quelques observations signalent l'élimination du virus dans *les urines*, au début de la maladie (520 - 603). Récemment Hinuma et coll. (599) ont pu, par immunofluorescence, déceler l'antigène viral spécifique dans certaines cellules du sédiment urinaire.

Des virus Coxsackie B ont également été isolés à partir des *sécrétions nasales* (250) et de *frottis conjonctivaux* (Bell et coll. cités par Gelfand, 587).

Des précisions sur la fréquence, la date et la durée d'élimination des virus Coxsackie B dans divers produits pathologiques seront données ultérieurement.

LES VIRUS COXSACKIE DANS L'ENVIRONNEMENT DE L'HOMME

1. — Les virus coxsackie dans le milieu extérieur.

La résistance de ces virus à certains agents physiques et chimiques est bien connue. Ainsi peut s'expliquer leur survie dans le milieu extérieur, au niveau de divers éléments contaminés directement ou indirectement à partir d'excréta humains.

a) *Les eaux.*

Les virus Coxsackie, comme tous les entérovirus, ont été fréquemment isolés à partir des *eaux d'égoût*, ce qui ne peut sembler étonnant pour des virus dont l'élimination humaine est surtout fécale.

Ils peuvent survivre plusieurs mois dans les eaux polluées, mais leur fréquence et leur abondance sont soumises aux mêmes variations saisonnières qui règlent leur diffusion chez l'homme.

Dès 1951, Clark et coll. (562) ont isolé des virus Coxsackie dans les eaux d'égoût, surtout pendant les mois chauds. Cette prédominance estivo-automnale a été ultérieurement confirmée par de nombreux auteurs.

Sally et Kelly (cités par Foliguet, 80) recherchant des virus Coxsackie dans les eaux résiduaires de la ville d'Albany, en 1952 et 1953, ont pu les déceler constamment de juillet à septembre, plus rarement pendant les autres mois de l'année.

Melnick (640) a examiné 1.367 échantillons d'eaux d'égoûts pendant une période de 5 ans, dans six régions des Etats-Unis. La plupart des isolements ont été réalisés de juin à novembre avec un pic au mois d'août.

Au cours d'une étude de 29 mois, dans le Michigan, Bloom (554) a pu isoler, à partir de 1.018 prélèvements, 150 entérovirus (dont 31 E.C.H.O., 76 Coxsackie, 4 poliovirus et 17 agents non identifiés). De même les isolements ont été plus fréquents pendant les mois d'été et d'automne, avec une incidence maxima au mois d'août.

Dans une région donnée, non seulement l'identification des entérovirus isolés à partir des eaux d'égoût permet de déterminer la flore entérique virale qui règne, au même moment, dans la population, mais de plus la fréquence des isolements reflète grossièrement l'importance de l'infection humaine.

Paffenbarger et coll. (648) étudiant une épidémie d'infections à entérovirus dans un camp de jeunes garçons, ont pu isoler plusieurs de ces virus (E.C.H.O.$_1$ et $_{11}$, Coxsackie B_4) à partir des *eaux de vidange* du camp. Mais toutes leurs tentatives pour déceler une contamination de l'eau de la piscine et des eaux de boisson se sont révélées négatives.

Les eaux souterraines, mais surtout les eaux de surface peuvent être polluées par les eaux résiduaires. Leur utilisation comme eaux de boisson nécessite alors le recours à différents procédés de stérilisation faisant appel, selon les cas, aux rayons ultra-violets, aux oxydants, plus souvent au chlore et à ses dérivés. Nous avons déjà vu que l'inactivation des entérovirus par le chlore dépendait de différents facteurs dont le pH, la température et la teneur en matières organiques. Les conditions de concentration et de temps habituellement utilisées pour la stérilisation des eaux de boisson reposent généralement sur des critères purement bactériologiques, et, selon certains auteurs (34 - 80 - 138) ne seraient pas suffisantes pour assurer l'inactivation complète des entérovirus. Bloom et coll. 554) ont encore trouvé 10 % d'échantillons positifs dans l'effluent final.

Ainsi les eaux de boisson contaminées pourraient déterminer certaines épidémies, soit par ingestion directe, soit par souillure alimentaire indirecte, mais à notre connaissance, une telle origine n'a jamais été démontrée. Les eaux résiduaires représentent, néanmoins, un important réservoir de virus qui n'est pas à négliger.

b) Selon Gelfand (587) les mains d'enfants ainsi que la poussière des habitations abritant des malades ou des porteurs sains seraient une source importante de virus. Un virus Coxsackie B_3 a été isolé à deux reprises à partir de mains d'enfants. Nous n'avons pas eu connaissance d'une transmission de ces virus par des aliments.

2. — Les virus coxsackie chez les animaux.

a) *Chez les Arthropodes.*

Des virus Coxsackie ont été isolés à plusieurs reprises chez *des mouches*, de même que certains virus poliomyélitiques et E.C.H.O. Nous citerons, à ce sujet, les nombreux travaux de Melnick et coll. (182 - 639 - 640 - 643), les publications de Ward (684), Riordan et coll. (658) et Downey (578).

Ces isolements sont plus fréquents pendant la saison chaude. Les recherches effectuées par Melnick et coll. dans le Comté d'Hidalgo (639) et dans 6 régions des Etats-Unis (640) ont été plus fructueuses en été et en automne. De même Riordan et coll. (658), au cours d'une étude réalisée en 1958 dans une communauté indienne de l'Arizona, ont pu déceler chez des mouches des virus Coxsackie B_5 et d'autres entérovirus. Peu nombreux en février et mars, les isolements ont été fréquents en avril et mai.

Des mouches contaminées ont été capturées en période d'épidémies, mais aussi dans des régions indemnes de toute maladie humaine, surtout dans les collectivités de bas niveau social et économique (Downey, 578).

Hôtes habituels des maisons, ces insectes coprophages peuvent s'infecter au contact d'excréta humains contaminés. Mais leur rôle semble se limiter à celui de simples vecteurs passifs de l'infection et aucune prolifération virale n'a jamais pu être démontrée dans leur organisme (643).

De même des virus Coxsackie B_4 ont été isolés par Taylor et Hurlbut (677) à partir de *moustiques* capturés en Egypte, mais aucune multiplication du virus n'a pu être décelée chez le Culex (676).

Récemment en Virginie, au cours d'une épidémie attribuée au virus Coxsackie B_5, Siegel et coll. (493) ont observé la présence de nombreuses *mites* dans les habitations et ont recherché leur rôle possible comme réservoirs de virus. Mais toutes leurs tentatives pour isoler des virus à partir de déjections, du sang et des broyats de carcasses de ces parasites se sont révélées infructueuses.

Des recherches expérimentales ont été réalisées afin de mettre en évidence le rôle éventuel de certains arthropodes comme réservoirs de virus ou comme vecteurs de l'infection.

— Fischer et Syverton (582 - 583) ont infecté des *blattes* (*Periplaneta americana*) en les nourrissant avec des aliments additionnés d'une suspension de virus Coxsackie. Les excréments de ces animaux contenaient dès le 5e jour après le repas infectant et pendant 20 jours, suffisamment de virus pour déterminer une maladie paralysante mortelle chez le souri-

ceau. Dans les mêmes conditions, les glandes salivaires, prélevées 5, 10 et 20 jours après la contamination étaient également infectieuses.

— Les travaux de SCHWAB et coll. (670) ont porté sur un acarien, *le tropical rat mite* (*Liponyssus bacoti.*) Si cet animal héberge le virus pendant 16 jours après le repas infectant, par contre son rôle dans la transmission active du virus, par piqûre, paraît faible, sinon nul. Sur les 36 souriceaux piqués par cet acarien un seul a présenté des manifestations pathologiques et encore ne peut-on exclure que ces symptômes soient apparus à la suite de l'ingestion de l'acarien par le souriceau.

— Des broyats de *nymphes d'Ornithodores* (*Ornithodorus erraticus*), nourries expérimentalement sur des souriceaux infectés avec des virus Coxsackie, se sont révélés pathogènes non seulement pour ces animaux, mais aussi pour les cellules Hep_2 pendant 30 à 35 jours après la contamination. Mais GEVAUDAN et coll. (591) n'ont pu démontrer la multiplication du virus chez l'insecte, ni la possibilité d'une transmission directe par piqûre.

Les arthropodes ne semblent donc pas intervenir comme réservoir de virus Coxsackie, mais il est possible que certains de ces animaux, à la suite de l'ingestion d'excréments humains infectés, puissent conserver le virus plusieurs jours dans leur organisme et contaminer les aliments avec leurs déjections. Ils peuvent se comporter comme de simples vecteurs mécaniques de l'infection, mais une transmission active n'a jamais été démontrée. Leur rôle dans l'épidémiologie des infections à virus Coxsackie n'est probablement qu'accessoire.

b) *Chez les Vertébrés.*

Des infections naturelles à virus Coxsackie B ont été décrites chez différents vertébrés.

Chimpanzés. MELNICK et KAPLAN (641) ont pu produire expérimentalement, par voie orale, une infection inapparente chez des Chimpanzés avec des virus Coxsackie A et B. L'infection était démontrée par l'isolement du virus à partir du pharynx, des selles et du sang de l'animal et par l'apparition d'anticorps sériques spécifiques. Mais une infection et des résultats biologiques comparables ont également été observés chez d'autres singes infectés accidentellement au contact des précédents.

Des anticorps neutralisants anti-Coxsackie et E.C.H.O. ont été décelés par HORSTMANN et coll. (cités par GELFAND, 587) chez des singes, avant toute expérimentation. Mais on n'a pu déterminer si ces anticorps étaient apparus à la suite d'une infection acquise en Afrique, avant la capture, ou lors d'une contamination ultérieure par des hommes porteurs de virus.

Des anticorps neutralisant les virus Coxsackie B ont été plus rarement trouvés chez des *non primates.*

— Klein (613) a mis en évidence des anticorps de types B_4 et B_5 chez le bétail, aux Etats-Unis.

— Pohjanpelto et Vuopio (650) en Finlande, ont trouvé des anticorps A_{10} chez des porcs et des bestiaux, mais non chez les chevaux et les moutons. Absence d'anticorps anti A_4 et B_1.

— Flynn et Gelfand (in Gelfand, 587) ont testé à l'égard de différents entérovirus les sérums de 158 chiens de la Nouvelle-Orléans. Ils n'ont pas trouvé d'anticorps pour les poliovirus, les virus Coxsackie B_3 et E.C.H.O.$_{4, 11, 14}$. Par contre, 11 % des sérums neutralisaient le virus Coxsackie B_2 à taux élevé. Aucun entérovirus n'a pu être isolé à partir des selles des chiens domestiques et errants.

— Des anticorps neutralisant les virus Coxsackie A_1, A_3, A_4 (mais non B_1) ont été décelés dans les sérums de lapins sauvages, de renards, de marmottes (Morris et O'Connor, 644).

— Un virus Coxsackie A_5 a été isolé chez des porcs en Hollande (Verlinde, 682) et un type A_4 à partir du cerveau d'un chien (Makower, 635).

Mais si certains Vertébrés ont été trouvés porteurs de virus Coxsackie ou d'anticorps neutralisants spécifiques, il ne semble pas que ces animaux hébergent habituellement le virus. Leur contamination serait accidentelle et leur rôle comme réservoir de virus reste incertain.

II. — Modes de transmission de l'infection, voies de pénétration

La transmission des virus Coxsackie et leurs voies de pénétration dans l'organisme sont encore mal connues. Elles n'ont pas fait, à notre connaissance, l'objet d'études précises. Il est toutefois probable que ces virus, dont l'épidémiologie est par ailleurs très proche de celle des virus poliomyélitiques, se propagent de la même façon. Deux modes de transmission peuvent être envisagés : contamination directe ou indirecte, par voie digestive ou respiratoire.

La contamination interhumaine directe est généralement admise et semble la plus fréquente. Le meilleur argument qui plaide en sa faveur est le haut degré de contagiosité des infections à virus Coxsackie B. Qu'un malade ou un simple porteur sain pénètre dans une famille, la plupart des membres, sinon tous vont se trouver infectés (Jordan, 405 -

Selwyn, 671). Au cours d'une épidémie de méningites aseptiques à Coxsackie B_5, à Mason City, 80 à 100 % des sujets en contact avec les malades ont été contaminés (Chin, 311). De même, des cas multiples ont été fréquemment décrits au sein de petites collectivités, surtout infantiles : écoles (313 - 475), orphelinat (660), camp de jeunes garçons (648), crèches (565). Artenstein (550) a signalé la possibilité d'une contamination, en milieu hospitalier, entre malades d'une même chambre. Mais la transmission est parfois plus importante, atteignant une grande partie d'une population. L'aspect même de ces épidémies, leur développement non explosif, mais progressif, s'étendant tout d'abord à une rue, puis aux quartiers voisins, enfin à toute l'agglomération permet d'envisager une transmission par contact direct.

Si les principaux agents de l'infection, selles, gouttelettes de Pflüge, sont bien définis, par contre les portes d'entrée du virus sont moins bien connues et le rôle respectif de la contamination respiratoire par les gouttelettes de Pflüge ou de la contamination digestive par les mains souillées n'est pas encore bien déterminé. Il semble cependant que cette dernière soit la plus importante puisque l'excrétion du virus dans les selles est plus constante et plus prolongée qu'au niveau du pharynx.

L'expérimentation humaine a démontré la possibilité d'une infection par inoculation intranasale (Findlay et Howard, 349).

Mais tout permet de supposer également *une contamination indirecte* par ingestion d'eau de boisson infectée et insuffisamment stérilisée ou d'aliments souillés. De même l'inhalation de poussières contaminées ne peut être exclue.

Nous avons déjà vu que certains insectes, surtout les mouches coprophages, peuvent jouer un rôle de vecteurs passifs et intervenir dans la contamination des aliments.

L'existence d'une phase de virémie permet d'envisager une transmission possible, mais non prouvée, par piqûres d'insectes hématophages.

Contamination in utero. Plusieurs arguments, expérimentaux et cliniques, plaident en faveur d'une contamination fœtale par voie trans*placen*taire.

Expérimentalement, des virus Coxsackie B_3 ont pu être transmis par le placenta de la souris gestante au souriceau (249 - 250). Cette contamination in utero peut se traduire par des avortements. Mais la souris peut également donner naissance à des souriceaux porteurs de virus.

Sur le plan clinique, l'existence d'une virémie permet d'envisager ce

mode de transmission. Plusieurs observations relevées dans la littérature plaident en ce sens :

— Kibrick (410) a décrit une infection mortelle à virus Coxsackie B_4 chez un nouveau-né. L'apparition précoce des signes cliniques (13e heure de la vie), les signes de souffrance fœtale (présence de méconium dans le sac amniotique), l'existence de lésions viscérales dont l'évolution semble antérieure à la naissance évoquent une contamination in utéro. De plus la mère de cet enfant avait présenté 8 jours avant la délivrance une infection respiratoire mineure, dont l'étiologie Coxsackie B_4 fut démontrée à la fois par l'isolement du virus dans les selles et par la mise en évidence d'un taux croissant d'anticorps neutralisants homologues.

— Fruhling et coll. (356) rapportent le cas d'un enfant mort à l'âge de 2 jours avec une symptomatologie d'hémorragie méningée. Un virus Coxsackie B_3 fut isolé à partir du myocarde. Ce même virus fut découvert à partir des prélèvements autopsiques réalisés chez la mère, décédée 2 jours après la délivrance d'une septico-pyohémie. L'enfant ayant été séparé de sa mère dès la naissance, sa contamination in utero est probable.

— De même la découverte de lésions cardiaques à un stade avancé, avec images de fibroélastose, chez deux jumeaux décédés peu après la naissance ne peut s'expliquer que par une contamination transplacentaire (Fruhling et coll., 356 ; Surjus, 250).

III. — Diffusion des virus Coxsackie B dans l'organisme

Qu'il pénètre par voie digestive ou respiratoire, un virus Coxsackie peut se comporter, chez l'homme, de différentes façons :

Parfois le virus ne fait que transiter dans le tube digestif des sujets, sans manifestations cliniques, ni biologiques. On parle alors de « porteur sain ». Mais de tels cas semblent l'exception.

Le plus souvent, le virus détermine chez l'hôte une infection qui va se traduire par l'apparition d'anticorps sériques spécifiques. Cette infection peut déterminer une maladie apparente, mais elle peut aussi rester cliniquement latente.

Ces deux aspects de l'infection Coxsackie B correspondent probablement à des stades différents de la diffusion du virus dans l'organisme. Bien qu'elle ne soit pas encore parfaitement connue, cette diffusion semble en effet comporter plusieurs étapes :

Au cours d'une première étape, le virus se multiplie au niveau de la muqueuse digestive ou pharyngée, peut-être au niveau du tissu lymphoïde des ganglions lymphatiques, des plaques de Peyer ou des amygdales.

Puis il passe dans le sang où il ne persiste que peu de temps. Cette virémie transitoire a pu être démontrée à plusieurs reprises. Dès 1950, Howitt (603) mit en évidence un virus Coxsackie B dans le sang d'un malade, mais la valeur de ce résultat fut contestée par suite d'une contamination possible de laboratoire. En 1955 Taylor (676) en Egypte, au cours de l'examen systématique de 1990 échantillons de sang provenant de sujets atteints d'affections fébriles, trouve 4 souches de virus Coxsackie, dont deux appartiennent au sérotype B_2. La même année Bayer et Gear (287) signalent l'isolement d'un virus Coxsackie B à partir du sang d'un malade présentant une atteinte du système nerveux central. En 1957, chez un sujet contaminé accidentellement au laboratoire par un virus Coxsackie B_2, Shelokov et Habel (492) ont pu isoler le virus de façon répétée à partir du sang prélevé 3 jours après le début des signes cliniques, c'est-à-dire 5 jours avant l'apparition de la méningite aseptique. Une virémie transitoire a été également démontrée par Steigman et Lipton (500) chez un nouveau-né.

Sur le plan clinique, ce stade peut rester asymptomatique ou se traduire par des manifestations prodromiques non spécifiques, telles que fièvre, myalgies, troubles digestifs... qui précèdent fréquemment l'apparition de symptômes plus caractéristiques.

Dans une deuxième étape, le virus, à la faveur de la virémie, peut se fixer au niveau d'un ou de plusieurs organes, puis s'y multiplier. Le tableau clinique dépendra alors de la localisation de l'agent infectieux.

In vivo, des virus Coxsackie B ont pu être isolés à partir du liquide céphalo-rachidien, du liquide péricardique, de biopsies musculaires et testiculaires. Récemment ils ont pu être décelés, par immunofluorescence, dans des cellules du tractus urinaire (Hinuma, 599) ou isolés à partir des urines (Utz, 520).

Des examens réalisés post-mortem ont confirmé le caractère généralisé de l'infection chez les enfants nouveau-nés.

C'est probablement par voie sanguine que le virus gagne le tissu nerveux. Mais une propagation le long des nerfs, bien qu'elle n'ait jamais été démontrée, ne peut être formellement éliminée.

En réalité bien des inconnues subsistent en ce qui concerne les mécanismes physiopathogéniques de l'infection Coxsackie B. Leur connaissance nécessitera d'autres études.

CONCLUSION : Si l'homme est le principal réservoir des virus Coxsackie, il en est également le principal agent de dissémination. Bien que la contamination interhumaine directe semble la plus fréquente, une transmission indirecte par l'eau et les aliments souillés est également possible. Certains insectes peuvent intervenir, mais uniquement comme vecteurs passifs de l'infection. La diffusion de ces virus dans l'organisme humain n'est pas encore parfaitement connue. Une multiplication au niveau des muqueuses digestives et pharyngée, suivie d'une virémie transitoire, puis d'une localisation de l'agent infectieux au niveau de certains tissus semblent en être les principales étapes.

QUATRIEME PARTIE

DIAGNOSTIC

PRONOSTIC et TRAITEMENT

CHAPITRE I

DIAGNOSTIC

DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

I. — Différents types de prélèvements

II. — Isolement et identification des virus Coxsackie B en cultures cellulaires

A. — Isolement

1) Méthode personnelle

2) Autres méthodes

B. — Identification

1) Neutralisation de l'effet cytopathogène par les immuns-sérums spécifiques

2) Autres méthodes d'identification

— par séro-neutralisation

— par inhibition de l'hémagglutination

— par immunofluorescence

— par réaction de fixation du complément

III. — Isolement et identification des virus Coxsackie B par inoculation au souriceau nouveau-né

A. — Isolement

B. — Identification

— par séro-neutralisation sur l'animal

— par réaction de fixation du complément

— par immuno-fluorescence

DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE

I. — Evolution des anticorps humoraux chez l'homme

II. — Techniques sérologiques

A. — Recherche des anticorps neutralisants

B. — Recherche des anticorps fixant le complément

C. — Recherche des anticorps par les techniques d'immuno-fluorescence, d'inhibition de l'hémagglutination, de floculation

Valeur respective des différentes réactions sérologiques

CONCLUSION

CHAPITRE II

PRONOSTIC ET TRAITEMENT

CHAPITRE I

DIAGNOSTIC

Le diagnostic d'une infection à virus Coxsackie B se fonde à la fois sur des éléments cliniques, épidémiologiques et biologiques.

L'aspect clinique seul ne permet habituellement pas d'affirmer l'étiologie. La plupart des syndromes attribués aux virus Coxsackie B sont en effet non spécifiques. Toutefois la maladie de Bornholm dans sa forme typique ou la survenue brutale de signes de défaillance cardiaque chez un enfant nouveau-né, surtout s'ils sont accompagnés d'autres manifestations viscérales, peuvent être plus évocateurs.

L'intérêt des arguments épidémiologiques n'est pas à négliger. L'existence d'infections connues dans le voisinage du malade, une notion de contage sont des éléments de valeur.

Mais tous ces arguments cliniques et épidémiologiques ne permettent qu'une orientation du diagnostic. Seul le laboratoire pourra affirmer la nature virale de l'affection.

Le diagnostic biologique comporte deux étapes :

— l'isolement du virus à partir d'un ou, mieux, de plusieurs prélèvements cliniques, puis son identification.

— l'étude sérologique qui doit mettre en évidence la présence et l'ascension d'anticorps humoraux spécifiques.

Nous ne pouvons décrire ici toutes les méthodes proposées pour le diagnostic virologique et sérologique des infections à virus Coxsackie B, chaque auteur ayant ses techniques personnelles. Nous nous contenterons d'exposer notre propre technique d'isolement et d'identification, et nous donnerons seulement le principe des autres procédés utilisés, tous les

details pouvant être trouvés dans les livres récents de LEPINE (157) et SOHIER (232).

DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

L'isolement des virus Coxsackie B peut se faire en cultures cellulaires, mais aussi par inoculation au souriceau.

Nous envisagerons tout d'abord les différents types de prélèvements et discuterons leur valeur respective. Puis nous décrirons la technique d'isolement et d'identification des virus Coxsackie B en cultures cellulaires, telle que nous la pratiquons personnellement. Enfin, nous exposerons brièvement la technique d'isolement par inoculation au souriceau.

I. — Différents types de prélèvements

1° — *Les selles* représentent le prélèvement le plus courant et le plus fréquemment positif.

RUBIN et coll. (311 - 477), lors d'une épidémie à virus Coxsackie B_5, ont isolé le virus dans 60,7 % des selles, mais seulement dans 26,1 % des prélèvements de gorge et 10,5 % des L.C.R.

De même, JOHNSON et coll. (399) ont trouvé le virus par ordre de fréquence décroissante dans les selles (8 résultats positifs sur 9), le L.C.R. (9 sur 12), puis la gorge (5 sur 10).

Ces résultats peuvent s'expliquer non seulement parce que le virus est présent en quantité plus importante dans les selles, mais aussi par une durée d'excrétion fécale plus longue. Le virus est habituellement décelé dans les selles dès le 1er ou 2e jour de la maladie et peut y persister plusieurs semaines, voire plusieurs mois. Toutefois, si l'incidence de l'élimination fécale est élevée durant la première semaine de la maladie, elle diminue notablement pendant la seconde et seuls quelques sujets éliminent encore le virus après un mois. RUBIN et coll. (477) ont pu isoler le virus jusqu'au 36e jour. D'après DOMOK (577), le virus est surtout éliminé dans les selles pendant les 5 premiers jours de l'infection. Mais il n'est plus excrété que par 39 % des sujets au bout de 10 jours, et n'a pu être décelé que chez un seul malade au 30e jour. Au cours de la maladie néo-natale, l'excrétion diminuerait plus vite : le virus n'est présent que chez 12 % des nouveau-nés au bout de 10 jours ; par contre, il a pu être isolé, chez certains, 1 à 5 jours avant les premiers signes cliniques. Aucun virus n'a été découvert dans les selles d'enfants de moins

de 1 mois au cours d'une étude d'un an réalisée par DARDANONI (330) dans une collectivité infantile.

Chez les enfants nous pratiquons habituellement *l'écouvillonnage rectal.*

2° — *Les prélèvements de gorge* donnent des résultats plus inconstants. La durée d'excrétion par cette voie est plus courte et ne dépasse habituellement pas 8 jours (311).

3° — *Liquide céphalo-rachidien.* Des virus Coxsackie B ont été isolés à plusieurs reprises à partir du L.C.R., au cours d'affections méningées (308 - 372). Le virus y serait présent dès le début de la méningite, mais ne persisterait que quelques jours, dépassant rarement une semaine (311 - 482).

4° — *D'autres prélèvements*, plus rares, peuvent être pratiqués. In vivo, des virus Coxsackie B ont pu être isolés à partir du sang (492 - 500), des urines (520), de sécrétions nasales (250), de liquides péricardiques (299 - 406 - 484), de biopsies musculaires (159) et testiculaires (317). Au cours des examens réalisés post-mortem chez des nouveau-nés, le virus a été décelé au niveau de nombreux tissus : myocarde, cerveau, moelle, foie, pancréas, poumons, rate, reins.

II. — Isolement et identification des virus Coxsackie B en cultures cellulaires

ISOLEMENT

1. — *Méthode personnelle.*

Nos isolements ont été réalisés à partir de matières fécales, de prélèvements de gorge et de L.C.R.

Traitement des différents prélèvements :

Matières fécales : les selles sont traitées par extraction à l'eau. Elles sont émulsionnées dans du liquide de Hanks, puis soumises à deux centrifugations successives de 15.000 tours par minute pendant 30 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée. A l'issue de la deuxième centrifugation, le surnageant est recueilli, puis ajusté à pH 7,2 et additionné d'antibiotiques

(Pénicilline. Streptomycine, Kanamycine) avant d'être inoculé aux cultures cellulaires.

A la suite d'un écouvillonnage rectal, l'écouvillon est plongé dans un tube contenant du liquide de Hanks additionné d'antibiotiques.

Les prélèvements de gorge sont traités par écouvillonnage de la même façon. La technique du lavage de gorge peut également être utilisée.

Les liquides céphalo-rachidiens sont inoculés directement aux cultures cellulaires sans traitement préalable. Toutefois, il est essentiel que l'inoculation soit réalisée, sinon immédiatement au lit du malade, au moins dans l'heure qui suit le prélèvement. Tous nos résultats positifs ont été obtenus dans ces conditions.

Technique d'isolement.

Nous utilisons 3 *types de cultures cellulaires :*

— des cellules rénales de singe (Cynocephalus babuin) obtenues par trypsinisation selon la méthode de DULBECCO. Elles sont maintenues en culture dans un milieu à l'hydrolysat de caséine sans sérum.

— des cellules thyroïdiennes humaines de première explantation obtenues par trypsinisation de thyroïde prélevée chirurgicalement. Elles sont également placées dans un milieu à l'hydrolysat de caséine avec 5 % de sérum de poulain.

— des cellules KB en lignée continue maintenues dans un milieu identique additionné de 5 % de sérum de poulain.

Les prélèvements sont inoculés à raison de 0,2 ml dans chaque tube de culture. Nos inoculations sont faites systématiquement sur cellules rénales de singe et cellules thyroïdiennes humaines à raison de 2 tubes pour le premier système et d'un seul tube pour le second, par prélèvement. Ces tubes sont ensuite placés à l'étuve à 37° en appareil roulant. Les cultures sont examinées au microscope sans préparation tous les deux jours.

Des tubes à lamelle sont également inoculés pour l'étude des lésions cytopathiques par coloration à l'hémalun-éosine.

La présence d'un virus Coxsackie B dans le tube de culture va se traduire par un *effet cytopathogène* qui peut apparaître dès le premier passage. Mais la date d'apparition des premières lésions et leur vitesse de diffusion à la culture varie selon le système utilisé :

— sur cellules rénales de singe, les lésions cellulaires apparaissent du 2e au 4e jour et la nappe cellulaire est complètement lysée en 4 à 6 jours

avec quelques variations selon les souches. Cet effet cytopathogène est plus tardif que celui des virus poliomyélitiques qui provoquent des lésions dès la 20e heure. Par contre, avec les virus E.C.H.O., il ne se manifeste que vers le 4e ou 5e jour.

— sur cellules thyroïdiennes, la dégénérescence est inconstante et ne débute que vers le 8e ou 11e jour.

Parfois, les lésions n'apparaissent qu'au cours du 2e passage, c'est pourquoi nous effectuons toujours un repiquage vers le 7e jour sur rein de singe. Les lésions sont habituellement plus précoces et s'étendent plus rapidement au cours du 2e passage.

Nous ne reviendrons pas sur l'aspect de cet effet cytopathogène qui a été décrit antérieurement au cours de l'étude des caractères culturaux des virus Coxsackie B. Qu'elles soient observées au microscope sans préparation ou après fixation et coloration par l'hémalun-éosine, ces lésions ne diffèrent en rien de celles créées par les autres entérovirus et ne permettent pas de dire à quel groupe polio, Coxsackie ou E.C.H.O. appartient le virus isolé.

C'est pourquoi, pour avoir une orientation, dès que nous avons décelé un effet cytopathogène de type entérovirus, nous inoculons 2 tubes de cellules KB. S'il s'agit d'un virus Coxsackie B ou poliomyélitique, les lésions cellulaires vont apparaître précocement dès la 24e ou la 48e heure. Par contre, les virus E.C.H.O. se multiplient difficilement sur ce système, donnant un effet cytopathogène sinon nul, du moins tardif ou peu marqué. Il en est de même pour les quelques souches Coxsackie A qui ont été adaptées à la culture in vitro. La présence d'une dégénérescence cellulaire précoce et intense en cellules KB nous permet donc d'éliminer un virus E.C.H.O.

L'absence de neutralisation de l'effet cytopathogène avec les 3 antisérums poliomyélitiques (types I, II et III) permettra d'exclure ensuite un poliovirus.

Schématiquement, l'isolement d'un virus Coxsackie B comporte donc 3 étapes :

— constatation d'un effet cytopathogène de type entérovirus sur cellules rénales de singe.

— présence d'une dégénérescence cellulaire sur cellules KB, permettant d'éliminer un virus E.C.H.O.

— absence de neutralisation par les 3 antisérums poliomyélitiques, faisant rejeter l'hypothèse d'un poliovirus.

2. — A défaut de cellules rénales de singe ou de cellules KB, *d'autres systèmes cellulaires* peuvent être utilisés pour l'isolement des virus Cox-

sackie B : cellules amniotiques humaines de première explantation (157 - 232) ou cellules Hep-2 (176) et cellules FL (612 - 669) en lignée continue. D'après KAPPEL (612), ces dernières seraient plus sensibles que les autres lignées cellulaires. Les cellules Hela donnent des résultats plus irréguliers (89 - 173).

GUERIN et coll. (104) proposent d'utiliser des cultures primaires de cellules rénales de porc qui, sensibles à tous les virus Coxsackie B, ne permettent pas la multiplication des autres entérovirus.

HSIUNG (606) fait appel à un système de cultures cellulaires différentielles (cellules amniotiques humaines - production de plages sur rein de Patas et rein de rhésus - lignée Hep-2) associé à des épreuves d'hémagglutination. Mais ce procédé est difficilement applicable à une technique de routine.

L'isolement par *la méthode des plages* a été appliquée aux entérovirus par HSIUNG et MELNICK (124 - 125). Plus délicate que l'isolement en milieu liquide, elle n'entre pas dans la pratique courante. Elle est surtout utilisée pour distinguer 2 entérovirus présents simultanément dans un même inoculum, en particulier lorsque l'étude sérologique démontre une double infection. Plus sensible que la méthode ordinaire, elle est également utile pour déceler un virus dans un produit pathologique de faible titre infectieux.

IDENTIFICATION

L'identification permet, non seulement d'affirmer la nature du virus, mais aussi d'en préciser le type.

1. — *Nous utilisons la technique classique de neutralisation de l'effet cytopathogène par les immuns-sérums spécifiques.* Son principe est simple : l'immun-sérum au contact du virus Coxsackie B de type correspondant le neutralise et l'inoculation du mélange à une culture sensible ne détermine alors aucun effet cytopathique.

Outre les 6 types de sérums Coxsackie B, on peut également utiliser les sérums correspondant aux types antigéniques A (en particulier A_7 et A_9) dont certaines souches peuvent être isolées en culture de tissus.

Titrage du virus. Avant de pratiquer la neutralisation, il est nécessaire de déterminer le titre de la souche isolée. Ce titrage est effectué sur cellules KB. La suspension virale est diluée à raison 10 dans du liquide de Hanks. Chaque dilution est inoculée à raison de 0,1 ml par tube de culture, contenant chacun 0,9 ml de la suspension cellulaire. On inocule ainsi 6 tubes par dilution de façon à déterminer la DCT 50 %, c'est-à-dire la dilution qui entraîne une lyse cellulaire dans la moitié des tubes.

Réaction de neutralisation. Chaque immun-sérum dilué au 1/10 est mis en contact avec la suspension virale diluée à 200 DCT 50 par ml. Chaque mélange est agité, puis mis à l'étuve à 37° pendant 2 heures. Il est ensuite inoculé à 2 tubes de cellules KB à raison de 0,2 ml par tube. Ceux-ci sont placés en appareil roulant à 37°. La lecture est faite au bout de 48 heures. On vérifie en même temps s'il se produit une lyse cellulaire dans les tubes témoins-virus, placés dans les mêmes conditions. Le type de virus correspond à celui de l'immun-sérum qui empêche la lyse cellulaire.

2. — *Autres méthodes d'identification.*

Elles peuvent faire appel à des tests de séro-neutralisation, de fixation du complément, d'inhibition de l'hémagglutination et d'immuno-fluorescence.

Identification par séro-neutralisation.

a) *Utilisation de mélanges de sérums.* Pour simplifier la technique de neutralisation classique, on peut utiliser, non chaque immun-sérum séparément, mais des mélanges neutralisants associant plusieurs antisérums (594 - 632).

Si aucun de ces mélanges ne donne de protection, on peut éliminer un virus Coxsackie B. Par contre, si le virus isolé est un Coxsackie B, on va observer une neutralisation de l'effet cytopathogène avec l'un des mélanges. Pour identifier le virus, il suffit alors de réaliser un typage avec tous les sérums, pris séparément, qui entrent dans la constitution du mélange. Lim et Benyesh-Melnick (632) ont proposé un schéma, associant des immuns-sérums de virus Coxsackie et E.C.H.O. en combinaisons variées, telles que chaque sérum figure dans deux mélanges et que chaque virus ne puisse être neutralisé que par deux mélanges.

b) *Le test métabolique ou test colorimétrique* a été appliqué à l'identification des virus Coxsackie B par Schmidt, Midulla et Lennette (669). Son principe est simple. Le métabolisme cellulaire se traduit habituellement par une acidification du milieu. Tout virus qui se multiplie dans les cellules, en inhibant leur métabolisme et en les détruisant, provoque une alcalinisation du milieu. Par contre, si le virus est neutralisé préalablement par l'immun-sérum spécifique, il ne pourra se multiplier et le métabolisme cellulaire normal déterminera une acidification.

Selon la technique de Schmidt et coll. (669), le contact virus-immun-sérum se fait en tubes pendant 1 heure à la température du laboratoire, puis on ajoute une suspension de cellules sensibles (Hela ou FL). La lecture est effectuée au bout de 8 à 10 jours, lorsque le pH des tubes-cellules

témoins est voisin de 7. Les tubes dont le pH est supérieur à 7,3 sont le siège d'une multiplication virale. Par contre, dans les tubes où le pH est inférieur à 7, il n'y a pas eu de multiplication virale par suite de l'effet neutralisant du sérum. Le milieu utilisé par SCHMIDT et coll. avait la composition suivante : milieu 199 de PARKER additionné de 5 % de sérum de lapin et de 1,5 % d'une solution de glucose à 20 %. Ce test peut être exécuté actuellement en tubes ou en cupules de plastique.

c) *Neutralisation par l'épreuve dite « de réduction des plages »*. Elle a été utilisée, en particulier par SAKUDARA et PRINCE (667) avec les virus Coxsackie A_9, B_1, B_3, B_4, B_5, les virus poliomyélitiques et certains virus E.C.H.O.

Deux techniques ont été décrites :

— le virus à étudier est mis au contact des cellules pendant 2 h à 37° pour l'adsorption, puis la nappe cellulaire est recouverte d'un milieu gélosé. Des disques de papier imprégnés d'immun-sérum sont alors déposés sur la gélose. Après incubation à 37°, on observe autour du disque imprégné de l'immun-sérum spécifique correspondant au type du virus étudié une zone d'inhibition des plages dont le diamètre dépend à la fois du titre de la suspension virale (nombre de PFU) et du titre du sérum, ceux-ci devant être déterminés avant le test.

— d'autres auteurs incorporent le sérum au milieu gélosé, puis imprègnent la surface de la gélose avec la suspension virale.

d) Enfin, nous citerons, pour être complet, *le test de protection croisée chez les souriceaux nés de mères vaccinées*, utilisé par MELNICK et KRAFT (641 bis) pour le typage des virus Coxsackie.

IDENTIFICATION PAR INHIBITION DE L'HÉMAGGLUTINATION.

Cette réaction peut servir à identifier les souches appartenant aux types hémagglutinants B_1, B_3 et B_5. On utilisera de préférence des hématies d'enfants nouveau-nés (140), certaines hémagglutinines Coxsackie B ne pouvant être révélées par les hématies humaines adultes. Le typage est réalisé en 2 temps :

— *mise en évidence de l'hémagglutinine.* Le liquide de la culture infectée est mis au contact d'une suspension de globules rouges pendant 1 h. 30 à 2 h. à + 4°.

— *Puis réaction d'inhibition de l'hémagglutination.* Différentes dilutions du virus sont mises en présence de globules rouges. Après 2 heures de contact à 4°, on détermine l'unité hémagglutinante, c'est-à-dire la

plus grande dilution d'antigène pour laquelle il y a une hémagglutination nette. Puis on étudie l'inhibition de l'hémagglutination (4 unités hémagglutinantes) avec différents immuns-sérums correspondant soit à tous les entérovirus hémagglutinants connus, soit seulement aux Coxsackie B_1, B_3 et B_5 si des tests d'identification préalables ont permis d'éliminer virus poliomyélitiques et E.C.H.O.

Mais cette réaction n'est pas utilisée en pratique courante pour l'identification des virus Coxsackie B en raison de son manque de spécificité. Par contre, elle est adoptée fréquemment pour le typage des virus E.C.H.O.

Identification par immuno-fluorescence.

Les tests d'immuno-fluorescence ont été appliqués récemment aux virus Coxsackie B (555 - 596 - 599 - 672). Non seulement ils sont aussi sensibles et précis que les tests de neutralisation de l'effet cytopathogène, mais de plus ils permettent une identification beaucoup plus rapide des virus.

C'est la technique directe qui est habituellement utilisée, c'est-à-dire que les anticorps anti-Coxsackie sont eux-mêmes marqués par le composé fluorescent, habituellement l'isothiocyanate de fluoresceine. Les cultures peuvent être réalisées en tubes ordinaires ou en tubes à lamelle. Les cellules sont recueillies dès qu'apparaît l'effet cytopathogène. Elles sont séchées, fixées à l'acétone, puis colorées par les techniques habituelles.

Cette méthode directe a été appliquée par Hatch (596) pour le typage de 70 souches d'entérovirus isolées sur rein de singe. Les sérums utilisés étaient des sérums de lapins. Shaw et coll. (672) utilisent des pools de sérums de lapins préparés selon la technique de Lim et Benyesh-Melnick (632). Cette méthode a été également adoptée par Brown (555) pour l'identification des entérovirus et a permis de déceler des virus Coxsackie sur des coupes de tissus prélevés post-mortem.

Récemment, Hinuma et coll. (599) ont pu mettre en évidence l'antigène viral spécifique dans des cellules du culot urinaire chez 6 malades atteints d'affections à virus Coxsackie B_5 : les antisérums mélangés à un volume égal de complément étaient mis en contact avec le culot de centrifugation des urines. Puis, après lavage, celui-ci était coloré par un sérum anticomplément conjugué à l'isothiocyanate de fluoresceine.

Identification par réaction de fixation du complément.

Cette méthode est peu utilisée pour l'identification des virus isolés sur cultures cellulaires en raison de la mauvaise qualité des antigènes obtenus sur cultures de tissus et de la fréquence des réponses hétérotypiques.

III. — Isolement et identification des virus Coxsackie B par inoculation au souriceau nouveau-né

Le recours à l'animal s'impose surtout pour les virus Coxsackie du groupe A, dont peu de types ont pu jusqu'ici être isolés en cultures in vitro. Par contre, les virus Coxsackie B s'isolent facilement sur cultures cellulaires et ce système est habituellement plus sensible que l'animal (155 - 173). Toutefois quelques souches n'ont pu être décelées in vitro, alors qu'elles se manifestaient chez l'animal (89). Il est donc recommandé d'associer systématiquement les deux modes d'isolement, ou tout au moins de recourir au souriceau lorsque les données cliniques et épidémiologiques permettent de suspecter un virus Coxsackie et qu'aucun résultat positif n'a été obtenu sur cultures cellulaires.

ISOLEMENT

Les prélèvements sont habituellement traités comme pour l'inoculation aux cultures de tissus.

On utilise des souriceaux de 24 heures au plus, appartenant de préférence à plusieurs portées. D'après la technique de Dalldorf appliquée par Sohier (232), 1/3 des animaux sont inoculés par voie intrapéritonéale (0,05 à 1 ml), 1/3 par voie sous-cutanée (0,1 à 0,2 ml) et 1/3 par voie intracérébrale (0,01 à 0,02 ml).

Si un virus Coxsackie B est présent dans le prélèvement, on observera vers le 3e ou 4e jour l'apparition d'une maladie paralysante souvent mortelle. L'examen anatomo-pathologique mettra en évidence des lésions multiples et caractéristiques que nous avons décrites antérieurement. Si les résultats sont douteux ou négatifs, il est nécessaire de tenter un passage aveugle.

On peut également utiliser d'autres animaux sensibles : mérions (158), hamsters (18) ou furets (261) nouveau-nés.

IDENTIFICATION

L'aspect des lésions permet d'affirmer qu'il s'agit d'un virus Coxsackie B. Le typage pourra être réalisé de plusieurs façons :

— *par séro-neutralisation sur l'animal.*

D'après Sohier (232) : à partir de la carcasse broyée de souriceaux, on prépare une suspension infectieuse qui est titrée, puis diluée de façon à contenir 100 DL_{50}/0,05 ml. Cette suspension est mise au contact des différents immuns-sérums (mélanges ou immun-sérum isolé) et le

mélange est incubé 1 heure à la température ambiante. Chaque mélange est inoculé à un lot de souriceau selon la voie choisie pour le titrage. Le lot de souriceaux protégés permettra de connaître le type du virus isolé.

— *par réaction de fixation du complément.*

Cette réaction n'est que rarement utilisée, en raison de son manque de spécificité.

Les antigènes peuvent être préparés selon différents procédés que nous envisagerons lors de l'étude sérologique.

On utilisera de préférence des sérums immuns d'origine animal, sérums de cobaye (Institut Pasteur) ou de singes (Gnesh, 592), qui donnent des réponses plus spécifiques que les sérums humains.

Le test est réalisé selon la technique de Kolmer, avec quelques variantes selon les auteurs.

— *par immuno-fluorescence.*

Nous n'avons pas eu connaissance d'une application de cette méthode pour le typage des virus Coxsackie B chez l'animal, mais elle a été récemment utilisée expérimentalement par Rabin et coll. (213) pour déceler l'antigène viral au niveau des lésions myocardiques créées par un virus Coxsackie B chez la souris adulte.

Valeur de l'isolement d'un virus Coxsackie B :

L'isolement d'un virus Coxsackie B dans les selles ou la gorge d'un sujet ne permet pas, à lui seul, d'affirmer l'existence d'une infection par ce virus. Il peut en effet s'agir d'un simple porteur sain. L'isolement du virus à partir du sang, du L.C.R., du liquide péricardique ou de biopsies a beaucoup plus de valeur et chaque fois l'infection virale a pu être confirmée par l'étude sérologique.

Inversement, l'absence du virus dans les divers prélèvements n'exclut pas l'infection virale. L'élimination du virus est en effet souvent transitoire, parfois discontinue. Il est donc nécessaire d'effectuer les prélèvements dès le début de la maladie et de les répéter, si possible.

Mais dans tous les cas, l'étude sérologique est un complément nécessaire pour affirmer l'étiologie virale.

DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE

La multiplication d'un virus Coxsackie B dans un organisme humain détermine l'apparition de plusieurs types d'anticorps humoraux qui peuvent

être mis en évidence par des techniques de séro-neutralisation, de fixation du complément, d'inhibition de l'hémagglutination, de précipitation et d'immunofluorescence.

Après un bref rappel de l'évolution de ces anticorps, nous envisagerons les différents procédés qui permettent de les déceler.

I. — Evolution des anticorps humoraux chez l'homme

Les anticorps neutralisants apparaissent précocement. Dans les différentes observations, ils ont pu être décelés habituellement du 2e au 12e jour de la maladie (313 - 397), parfois seulement vers le 15e ou 21e jour. Chez un sujet contaminé accidentellement en manipulant un virus Coxsackie, ils sont apparus 12 jours après l'apparition des premiers signes cliniques (Shaw et coll., 491). Leur taux s'élève rapidement et atteint un maximum au bout de 3 à 4 semaines. Des titres de 1/64 à 1/512 sont fréquemment observés, mais ils peuvent être parfois plus élevés (Martineau : 1/1412 et 1/5623 - Brodie : 1/1024 au bout de 3 mois - Stern : 1/2.000). L'activité neutralisante du sérum dépend sans doute, non seulement du pouvoir antigénique de la souche virale, mais aussi de facteurs humains individuels. Ces anticorps peuvent persister longtemps, pendant 1 an et parfois même 2 ans après le début de la maladie. Dans une étude de Bell et Meis (288) concernant une contamination accidentelle de laboratoire, les anticorps neutralisants anti-Coxsackie B_3, absents au début de la maladie, étaient présents dans les prélèvements de sang effectués 1 mois, 8 mois et 22 mois après les premiers signes cliniques, respectivement aux taux de 1/120, 1/146 et 1/60. Ils ont également pu être décelés au bout de 10 mois dans l'observation de St-Geme (483).

Les anticorps fixant le complément sont plus rarement recherchés. Leur date d'apparition varie selon les observations, mais ils semblent également précoces et ont pu être détectés parfois dès le 3e (349) ou 9e jour (368) de la maladie. Chez un sujet inoculé volontairement par voie nasale avec un virus Coxsackie, ils sont apparus dès la 72e heure (349). Ils atteignent un taux maximum vers le 3e mois et disparaissent assez rapidement en 6 à 12 mois. Leur présence signe donc une infection récente. Leur taux est également variable selon les types de virus, mais il est généralement inférieur à celui des anticorps neutralisants.

La recherche des *anticorps inhibant l'hémagglutination et précipitants* n'appartient pas encore à la pratique courante. Des réactions hétérologues ont été signalées avec les premiers (220). Quant aux anticorps floculants, apparaissant précocement et disparaissant rapidement, ils suivent une évolution comparable à celle des anticorps fixant le complément. Les

anticorps inhibant l'hémagglutination ont été recherchés par CHERRY (308) au cours d'infections à virus Coxsackie B_5. Ils étaient présents aux taux de 1/80 à 1/640.

II. — Techniques sérologiques

A. — RECHERCHE DES ANTICORPS NEUTRALISANTS

Le pouvoir neutralisant d'un sérum à l'égard d'un virus est déterminé en inoculant à un système sensible (animal, œuf embryonné ou cultures cellulaires) un mélange de ce sérum avec une concentration de virus suffisante pour provoquer une infection du système. Suivant les réactions provoquées, on peut connaître le taux de protection conféré par le sérum.

La neutralisation peut être réalisée suivant 2 méthodes générales :

— La première, qui est la plus utilisée, consiste à ajouter à différentes dilutions du sérum inconnu une quantité constante de virus. La dilution la plus élevée qui empêche l'infection du système traduit l'activité neutralisante du sérum.

— Dans la seconde, le sérum est utilisé non dilué et mis en présence de quantités décroissantes de virus. L'activité neutralisante est alors exprimée par la réduction du titre du virus dans le système sensible.

La neutralisation des virus Coxsackie B est habituellement pratiquée sur cultures cellulaires, selon la première méthode. Différentes techniques ont été proposées que nous citerons successivement.

1° — TECHNIQUE CLASSIQUE DE SÉRO-NEUTRALISATION

Elle comporte plusieurs étapes :

a) *Préparation et titrage de l'antigène - Préparation des sérums.*

Il est nécessaire de disposer d'une suspension virale stable et de titre connu. Le titrage peut se faire par détermination de la DL_{50} ou de la DCP_{50}.

Le sérum du malade est inactivé par chauffage à 56°C pendant 30 mn. S'il n'est pas utilisé immédiatement, il peut être conservé au congélateur à — 25°C.

b) *Incubation du mélange sérum-virus.*

Les proportions virus-sérum, ainsi que le temps de contact et la température d'incubation varient selon les auteurs.

LEPINE (157) associe 0,2 ml de sérum à 0,2 ml de la suspension virale

titrée à 200 DCP_{50} par 0,1 ml. La réaction est réalisée sur deux dilutions de sérum : 1/4 et 1/8. Incubation 1 heure à 37°.

Sohier (232) met en contact 0,3 ml de sérum et 0,3 ml de suspension virale (100 $DICT_{50}$/0,1 ml). Les dilutions de sérum sont respectivement 1/2, 1/8 et 1/32 pour le sérum précoce et 1/8, 1/32, 1/128 et 1/512 pour le sérum tardif. Les mélanges sont mis à incuber 1 heure à la température du laboratoire en agitant fréquemment.

c) *Inoculation du mélange à la culture cellulaire.*

La dose inoculée aux cultures sensibles est également variable, mais elle doit être comprise entre 50 et 300 DCP_{50}, habituellement de l'ordre de 100 DCP_{50}. Chaque mélange est inoculé à 2 tubes de cultures cellulaires. Puis ceux-ci sont mis à l'étuve. Des témoins-virus sont traités dans les mêmes conditions. La lecture est réalisée au 3e et au 5e jour. Selon Lepine, la réaction est dite positive s'il y a protection complète des cellules pour les deux dilutions de sérum utilisées, douteuse s'il n'y a protection qu'avec la dilution 1/4, et négative s'il n'y a aucune protection.

A cette réaction qualitative on peut adjoindre une réaction quantitative. La technique est la même, mais on utilise alors dix dilutions de sérum de 1/4 à 1/2048 correspondant à des dilutions finales de 1/8 à 1/4096. La dilution la plus élevée qui empêche l'effet cytopathogène donne le titre neutralisant du sérum (Lepine, 157).

2° — Test colorimétrique ou métabolique

Au cours de ce test dont nous avons déjà exposé le principe, les mélanges sérums-virus sont réalisés directement dans les tubes qui recevront les cellules. Plus rapide que la technique classique, il est particulièrement indiqué pour les enquêtes épidémiologiques. Il a été appliqué à la détection des anticorps Coxsackie B_1 à B_5 par Rogers et coll. (662).

3° — Epreuve de réduction des plages

Elle a été utilisée par Sakudara et Prince (667) pour le titrage des anticorps neutralisant les virus Coxsackie B_1, B_3, B_4 et B_5 et d'autres entérovirus. La technique est identique à celle qui permet le typage des virus, mais dans le cas présent, le virus est connu et employé à la dose de 100 PFU par boîte. Elle n'est pas pratiquée couramment.

B. — RECHERCHE DES ANTICORPS FIXANT LE COMPLÉMENT

Appliquée pour la première fois aux virus Coxsackie par Casals, Olitsky et Murphy (26), la réaction de fixation du complément n'est que peu utilisée actuellement dans le diagnostic des infections à virus

Coxsackie B en raison de son manque de sensibilité et de son absence de spécificité.

Antigènes : ils ont été préparés suivant différentes méthodes d'extraction et de purification.

Les premiers antigènes utilisés furent obtenus *à partir de souriceaux infectés :* les antigènes employés par CASALS et coll. (25 - 26) étaient extraits par l'acétone-éther, puis concentrés par centrifugation. Mais si les antigènes préparés à partir des pattes de souriceaux donnèrent des réactions spécifiques, par contre ceux qui provenaient de cerveaux infectés se révélèrent inefficaces. MELNICK et coll. (182) ont préparé un antigène à partir de broyats de carcasses de souriceaux purifiés par le sulfate de protamine, puis concentrés par ultracentrifugation. HOWITT et BENEFIELD (604) utilisèrent des suspensions de muscles striés congelées et décongelées à plusieurs reprises, puis filtrées. Les antigènes employés par MANIRE, SULKIN et FARMER (636) étaient constitués soit par des suspensions brutes de cerveaux de souriceaux, soit par le surnageant après 2 centrifugations successives. DODD (cité par ROBBA, 661) a obtenu un antigène purifié en précipitant les protéines par de l'urate de potassium suivi d'une centrifugation. DELPY (570) a mis au point une technique de purification par le sulfate de protamine, puis l'éther.

Mais si les antigènes obtenus à partir des virus Coxsackie A donnent des résultats satisfaisants, par contre les antigènes Coxsackie B ont fréquemment un titre insuffisant ou un pouvoir anticomplémentaire élevé (645). De plus, les réactions manquent souvent de spécificité.

OKUNO et coll. (647) ont proposé un antigène, de titre élevé, préparé à partir du cerveau de souriceaux infectés par une souche (souche KURANO) appartenant au type antigénique B_5 et isolée à partir du L.C.R. d'un malade.

Plus récemment, on a cherché à obtenir des antigènes *à partir de cultures cellulaires infectées :* ROBBA et VIRAT (661) en 1960, s'inspirant de la méthode utilisée par Mlle ARTZET pour la préparation d'antigènes poliomyélitiques, ont préparé des antigènes à partir de 5 souches de virus Coxsackie B, cultivées sur cellules KB. L'antigène était constitué soit par le surnageant, soit par le culot des cultures infectées après centrifugation. Les réactions ont été réalisées avec des sérums de lapins hyperimmunisés. On n'a pas observé de réactions croisées avec les sérums B_1 et B_3. Par contre, les sérums B_4 et B_5 fixaient le complément en présence de l'antigène B_2.

D'autres antigènes obtenus à partir de cultures cellulaires ont été traités soit par perévaporation et ultracentrifugation (549), soit par le fluorocarbone (595).

L'antigène actuellement utilisé par Lepine (157) est préparé à partir de 3 ou 4 souches de virus Coxsackie B, de type différent, donnant un effet cytopathogène rapide et un bon titre en cultures cellulaires. Chaque souche est traitée séparément. Les cellules infectées sont prélevées 26 à 30 heures après l'inoculation, puis soumises à une série de 6 congélations et décongélations successives. Après centrifugation, le surnageant est recueilli et constitue l'antigène. Chaque antigène est titré vis-à-vis du sérum homologue. Puis on mélange entre eux les différents antigènes.

Technique de la réaction de fixation du complément :

Elle est réalisée selon la technique de Kolmer, soit en tubes, soit en plaques à cupules. Les sérums des malades sont utilisés à 2 dilutions : 1/8 et 1/16.

Lepine et coll. (617) ont proposé en 1953 une technique de déviation du complément sur plaques dont l'avantage est de n'utiliser que des quantités minimes d'antigènes et de sérums.

C. — RECHERCHE DES ANTICORPS HUMORAUX PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNO-FLUORESCENCE

La technique indirecte a été appliquée par Brown (555) et Riggs (656 - 657) pour l'identification et le titrage des anticorps spécifiques des 3 poliovirus et de nombreux types de virus Coxsackie A et B et des virus E.C.H.O.

Les lamelles de cellules infectées par des virus connus sont mises en contact pendant une nuit à + 4° avec les différentes dilutions du sérum à examiner. Après élimination de ce sérum et lavage des lamelles, celles-ci sont mises en contact pendant une heure à 37° avec un sérum anti-γ globulines humaines. Mais cette technique n'est pas encore employée couramment pour le diagnostic des infections à virus Coxsackie B.

De même, *le séro-diagnostic par inhibition de l'hémagglutination* ainsi que *les réactions de floculation*, s'ils ont été utilisés dans le domaine expérimental, sont peu employés actuellement, à des fins diagnostiques. Nous citerons toutefois l'application des tests de précipitation au diagnostic des affections à virus Coxsackie et E.C.H.O. par Balajan et coll. (551).

Valeur respective des différentes réactions sérologiques

En pratique, deux réactions sérologiques sont surtout utilisées pour le diagnostic des infections à virus Coxsackie B : les réactions de neutralisation et de fixation du complément.

Les tests de neutralisation sont les plus valables, car plus spécifiques. C'est sur eux que repose le typage des souches. Des réactions hétérologues ont toutefois été signalées, mais les titres des anticorps homologues dépassent alors nettement ceux des anticorps hétérotypiques. La présence d'anticorps humoraux spécifiques n'est cependant pas suffisante pour affirmer une infection contemporaine par le virus. Il faut de plus observer une élévation de leur taux entre le sérum prélevé au début de la maladie et un deuxième sérum recueilli 10 à 15 jours plus tard, à la phase de convalescence. Une différence de 3 tubes au moins doit être exigée. En l'absence d'une telle réponse, une infection évolutive ne peut être affirmée.

L'absence de prélèvement sérique initial rend parfois l'interprétation difficile. Seul un titre élevé du sérum tardif suivi d'une décroissance progressive peut être considéré comme valable.

La valeur diagnostique de *la réaction de fixation du complément* est beaucoup plus limitée en raison de la fréquence des réponses hétérotypiques. Démontrée initialement avec les antigènes préparés chez le souriceau, cette absence de spécificité a été confirmée avec les antigènes obtenus en cultures in vitro, malgré l'utilisation de différents procédés de purification. Cette réaction est peu utilisée pour le diagnostic des infections Coxsackie B.

Les autres tests d'inhibition de l'hémagglutination et de précipitation n'ont pas encore été suffisamment utilisés, à notre connaissance, pour pouvoir juger actuellement de leur valeur.

CONCLUSION

Le diagnostic de laboratoire des infections à virus Coxsackie B comporte donc deux étapes : l'isolement du virus et la mise en évidence d'un taux croissant d'anticorps spécifiques.

Toutefois il est difficile d'attribuer affirmativement un état pathologique à un virus Coxsackie B, même si le virus a été isolé et si le sérodiagnostic est positif. En effet, les porteurs sains sont nombreux et les sujets ayant une sérologie positive peuvent l'avoir acquise à la suite d'une infection, apparente ou inapparente, et ne sont pas obligatoirement atteints d'une maladie évolutive. Il peut s'agir également d'une infection à virus Coxsackie B associée à un état pathologique répondant à une autre étiologie. L'isolement du virus à partir du sang, du liquide céphalo-rachi-

dien ou péricardique, de biopsies, de même que l'impossibilité de démontrer une autre étiologie sont des éléments de valeur.

Le diagnostic d'une infection à virus Coxsackie B doit être formulé avec prudence et nécessite une confrontation soigneuse des arguments cliniques, épidémiologiques et biologiques.

CHAPITRE II

PRONOSTIC ET TRAITEMENT

Pronostic

Le pronostic des infections humaines à virus Coxsackie B est lié à l'âge des malades. De même que chez l'animal d'expérience, la gravité décroît progressivement avec l'âge. Chez l'enfant nouveau-né, l'infection prend un caractère généralisé avec atteinte simultanée de plusieurs organes, d'évolution souvent fatale. A l'inverse, chez l'enfant plus âgé et l'adulte, malgré des manifestations parfois sévères, la guérison est de règle, habituellement totale et sans séquelles.

Des exceptions sont toutefois signalées. La maladie néo-natale n'est pas irrémédiablement mortelle et des guérisons ont pu être observées (398). Par contre quelques cas mortels ou grevés de séquelles concernent des sujets plus âgés. Friderichsen (354) a décrit une myocardite fatale chez un nourrisson de 8 mois. Arendt et Böhm (280) : encéphalite mortelle chez un enfant de 12 ans. Walters (532) : apparition d'un syndrome de Parkinson chez une femme de 54 ans, à la suite d'une méningo-encéphalite. Lausecker et coll. (415) : état de décérébration définitif chez un nourrisson de 3 mois. Les paralysies sont habituellement peu sévères et disparaissent sans séquelles. Steigman (237) signale cependant une atrophie du muscle deltoïde qui a persisté pendant 15 mois chez un enfant de 6 ans. Une forme bulbo-spinale rapidement mortelle a été décrite par Kalter (407). Chez la femme enceinte, les manifestations sont généralement bénignes. La possibilité d'anomalies fœtales ou de lésions inflammatoires du myocarde évoluant vers la fibro-élastose, à la suite d'une contamination transplacentaire, a pu être envisagée.

Traitement

Il n'existe pas, actuellement, de thérapeutique spécifique des infections à virus Coxsackie B. Aucune substance chimique à action antivirale

n'a été utilisée, à notre connaissance, dans le traitement de ces affections. Toutefois les résultats obtenus avec le 2-(α hydroxybenzyl) benzimidazole ou H B B et la guanidine, qui inhibent sélectivement la multiplication des entérovirus en culture de tissus, laissent présager une application thérapeutique future. Mais toutes les tentatives effectuées jusqu'ici chez l'animal in vivo ont échoué. De même l'Interféron et les substances apparentées ainsi que la sérothérapie spécifique, s'ils ont été utilisés avec succès dans certaines affections virales, n'ont pas encore été appliqués aux virus Coxsackie B.

Ainsi le traitement sera-t-il uniquement symptomatique : thérapeutiques tonicardiaques et déplétives, oxygénothérapie dans les myocardites aiguës, sédatifs et analgésiques dans les formes douloureuses de la maladie de Bornholm ou dans les manifestations nerveuses, réhydratation dans les gastro-entérites graves... La rééducation et la physiothérapie peuvent être utiles dans les formes paralytiques, ainsi que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre dans la prévention des surinfections bactériennes.

L'utilisation des corticoïdes est diversement interprétée selon les auteurs. Leur emploi dans certains cas cliniques a parfois coïncidé avec une évolution heureuse (Javett, 398 - Lausecker, 415). Mais les améliorations spontanées, survenues dans certains cas considérés comme irréversibles, doivent rendre prudente l'interprétation des succès thérapeutiques. Les résultats expérimentaux ont démontré l'action aggravante des hormones de type cortisone sur l'évolution de la maladie expérimentale de la souris. Il nous paraît donc légitime de considérer avec méfiance l'application de l'hormonothérapie dans le traitement de ces affections en pathologie humaine.

La prophylaxie, qui s'impose surtout chez l'enfant nouveau-né en raison de la gravité habituelle de l'infection, est pratiquement inexistante. Aucun vaccin n'a encore été proposé. Il paraît cependant prudent d'éviter le contage de la femme enceinte ou du nouveau-né. L'administration de gamma globulines spécifiques serait peut-être à ne pas négliger, bien que leur efficacité soit encore incertaine.

CONCLUSION

La connaissance des virus Coxsackie a rapidement progressé depuis la découverte des premières souches par DALLDORF, en 1947.

L'introduction des cultures in vitro, les progrès de la technique ont permis de préciser leurs diverses propriétés biologiques et ont démontré les liens étroits qui les unissaient aux virus poliomyélitiques et E.C.H.O.

Par la confrontation des observations cliniques et des examens de laboratoire, il a été possible de rattacher aux virus Coxsackie B des syndromes variés, souvent non spécifiques et parfois connus depuis longtemps : maladie de Bornholm, myocardites et péricardites aiguës, méningites lymphocytaires, encéphalites, paralysies pseudo-poliomyélitiques et autres manifestations diverses... Nous avons décrit également la gravité de l'infection néo-natale.

Leur vaste diffusion dans l'espèce humaine, leur épidémiologie ont été étudiées grâce à des enquêtes réalisées chez les malades et dans des populations saines. Particulièrement intéressant est le problème de leur interférence avec les virus poliomyélitiques, qui a été démontrée tant sur le plan expérimental que clinique et épidémiologique.

Si le diagnostic des infections à virus Coxsackie B peut être orienté par la clinique et l'étude épidémiologique, il est surtout biologique. Souvent difficile, il doit satisfaire à des exigences précises, comprenant l'isolement du virus, l'apparition d'un taux croissant d'anticorps humoraux spécifiques et, si possible, l'absence de toute autre étiologie démontrée.

Voici donc l'histoire des virus Coxsackie B telle qu'elle s'est déroulée depuis près de 20 ans. Mais leur connaissance n'est pas encore complète. Si certains faits sont définitivement acquis, beaucoup d'inconnues subsistent, concernant en particulier leur structure, leurs propriétés antigéniques, les rapports avec les cellules hôtes. Leur domaine pathologique n'est certainement pas entièrement exploré. L'importance de leur rôle dans certains syndromes — gastro-entérites, exanthèmes, affections respiratoires — n'est

pas encore bien établie. Enfin si le traitement ne peut être encore que symptomatique, il n'est pas interdit de penser que l'on disposera un jour d'une thérapeutique antivirale efficace.

Nous nous sommes efforcés de faire ici le point des connaissances actuelles concernant ces virus, mais leur étude n'est pas terminée. D'autres travaux seront nécessaires et, sans doute, l'avenir nous réserve-t-il d'autres découvertes.

BIBLIOGRAPHIE

ETUDE BIOLOGIQUE

1. Albrecht (P.), Mayer (P.). — A comparison of tissue affinity in two type B1 Coxsackie viruses and the relationship of the virus to the parotid gland in white mice.
Acta virol., 1958, **2**, 245-249.
2. Andrewes (C.H.). — Classification of viruses of vertebrates.
Advanc. Virus Res., 1962, **9**, 271-296.
3. Andrewes (C.H.), Burnet (F.M.), Enders (J.F.), Gard (S.), Hirst (G.K.), Kaplan (M.M.), Zhdanov (V.M.). — Taxonomy of viruses infecting vertebrates: present knowledge and ignorance.
Virology, 1961, **15**, 52-55.
4. Barron (A.L.), Karzon (D.T.). — Cultivation of enteroviruses in hamster kidney tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **100**, 316-320.
5. Barski (G.). — The significance of in vitro cellular lesions for classification of Enterovirus.
Virology, 1962, **18**, 152-154.
6. Beeman (E.A.), Huebner (R.J.). — Evaluation of serological methods for demonstrating antibodies responses to group A Coxsackie (herpangina) viruses.
J. Immunol., 1952, **68**, 663-672.
7. Behbehani (A.M.), Sulkin (S.E.), Wallis (C.). — Factors influencing susceptibility of mice to Coxsackie virus infection.
J. infect. Dis., 1962, **110**, 147-154.
8. Bell (J.F.), Hadlow (W.J.). — Responses of newborn and adult domestic rabbits (« Oryotolagus ») to infections with Coxsackie viruses.
J. infect. Dis., 1959, **105**, 54-60.
9. Bernheim (M.), Sohier (R.), Larbre (F.), Riffat (C.). — L'influence aggravante de la cortisone sur l'évolution de certaines infections à virus.
Rev. Lyon. Méd., 1958, **8**, 877-889.
10. Bernkopf (H.), Rosen (A.). — Cytologic changes in tissue cultures of human amnion cells infected with poliomyelitis, Coxsackie and ECHO viruses.
Amer. J. Path., 1957, **33**, 1215-1227.
11. Boring (W.D.), Angevine (D.M.), Walker (D.L.). — Factors influencing host-virus interactions. I - A comparison of viral multiplication and histopathology in infant, adult, and cortisone-treated adult mice infected with the Conn-5 strain of Coxsackie virus.
J. exp. Med., 1955, **102**, 753-766.
12. Boring (W.D.), Levy (R.S.). — Studies on the production of B_1 Coxsackie virus by Hela cells.
J. Immunol., 1962, **88**, 394-400.
13. Boring (W.D.), Ungar (R.F.). — Hyperthyroïd state and the effect of cold on Coxsackie virus infection in mice.
J. Bact., 1962, **83**, 694-695.
14. Boring (W.D.), Zu Rhein (G.M.), Walker (D.L.). — Factors influencing host-virus interactions. II - Alteration of Coxsackie virus infection in adult mice by cold.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1956, **93**, 273-277.
15. Bosco (G.), Cassano (A.), Nuzzolo (L.), Ravetta (M.). — Modificazione dell' attivita citopatogena di un ceppo di virus Coxsackie B_4 trattato con ultrasuoni.
Nuovi Ann. Ig., 1959, **10**, 503-506.

16. Breese (S.S.), Briefs (A.). — Certain physical properties of a Herpangina strain and a Pleurodynia strain of Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1953, **83**, 119-122.
17. Briefs (A.), Breese (S.S.)., Warren (J.), Huebner (R.J.). — Physical properties of two group A Coxsackie (Herpangina) viruses when propagated in eggs and mice as determined by ultracentrifugation and electron microscopy.
J. Bact., 1952, **64**, 237-246.
18. Burnstein (T.). — Relative susceptibility of young mice and hamsters to Coxsackie B_2 virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1960, **105**, 306-308.
19. Burnstein (T.), Schriver (P.W.), Tytell (A.A.). — Growth of Coxsackie group B viruses in rhesus monkey testicular cells.
Bact. Proc., 1958, **95**, 86.
20. Cajal (N.), Mateescu (S.), Copelovici (Y.). — Susceptibility of adult mice to the pathogenic action of Coxsackie virus following ionizing irradiation (X et β).
Acta virol., 1959, **3**, 107-112.
21. Carcassi (U.), Gioannini (P.). — Aspetti del metabolismo muscolare nell' infezione sperimentale del topino con virus Coxsackie.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1956, **31**, 277-281.
22. Carcassi (U.), Gioannini (P.). — Influenza dei virus Coxsackie gruppo B sul metabolismo muscolare dei topini neonati.
Boll. Ist. sieroter. Milan, 1956, **35**, 489-495.
23. Carcassi (U.), Tuveri (A.), Pitzus (F.). — Virus ed apparato cardio-vascolare l'elettrocardiogramma nell' infezione sperimentale del topino con virus Coxsackie gruppo B.
Minerva med., 1956, **47**, 1378-1385.
24. Carcassi (U.), Tuveri (A.), Pitzus (F.). — Virus ed apparato cardiovascolare alterazioni elettrocardiografiche sperimentali da virus Coxsackie.
Atti. Accad. Fisiocr., 1957, **13**, 192-198.
25. Casals (J.), Olitsky (P.K.). — Complement-fixation test with some of the viruses in the Coxsackie group.
Fed. Proc., 1950, **9**, 570-573.
26. Casals (J.), Olitsky (P.K.), Murphy (L.C.). — Hemagglutination and complement fixation with type I and II Albany strains of Coxsackie.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1949, **72**, 636-638.
27. Cassano (A.), Bosco (G.), Nuzzolo (L.), Ravetta (M.). — Preparazione di un antigene fissante il complemento mediante trattamento di un ceppo di virus Coxsackie B_4 con vibrazioni ultra-sonore.
Nuovi. Ann. Ig., 1959, **10**, 507-509.
28. Chang (R.). — Continuous subcultivation for epithelial like cells from normal human tissues.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1954, **87**, 440-443.
29. Chang (R.S.). — Participation of bicarbonate in RNA and protein syntheses as indicated by virus propagation in human cells.
J. exp. Med., 1959, **109**, 229-238.
30. Cheever (F.S.). — Multiplication of Coxsackie virus in adult mice exposed to roentgen radiation.
J. Immunol., 1953, **71**, 431-435.
31. Choppin (P.W.), Eggers (H.J.). — Heterogeneity of Coxsackie B_4 virus: two kinds of particles which differ in antibody sensitivity, growth rate and plaque size.
Virology, 1962, **18**, 470-476.
32. Choppin (P.W.), Philipson (H.). — The inactivation of enterovirus infectivity by the sulfhydril reagent p - chloromercuribenzoate.
J. exp. Med., 1961, **113**, 713-734.
33. Christen (J.P.). — A propos du virus de Coxsackie.
Rev. méd. Suisse rom., 1952, **72**, 725-733.
34. Clarke (N.A.), Kabler (P.W.). — The inactivation of purified Coxsackie virus in water by chlorine.
Amer. J. Hyg., 1954, **59**, 119-127.

35. Committee on the Enteroviruses. — National Foundation for Infantile Paralysis. The Enteroviruses.
Amer. J. publ. Hlth., 1957, **47**, 1556-1566.
36. Committee on Enteroviruses. — Classification of human enteroviruses.
Virology, 1962, **16**, 501-504.
37. Committee on Enteroviruses. — Picornavirus group.
Virology, 1963, **19**, 114-116.
38. Comptes-rendus. — *Symposium sur la caractérisation et l'emploi des souches diploïdes humaines*. Opatija 1963. Ed. sous la direction de l'Institut d'Immunologie de Zagreb.
39. Contreras (G.), Melnick (J.L.). Growth curves of Coxsackie viruses in mice including the temporal development of complement fixing antigens.
J. Immunol., 1953, **70**, 473-483.
Complement fixing antibodies against Coxsackie viruses in mice.
J. Immunol., 1953, **70**, 484-492.
40. Cooper (P.D.). — A chemical basis for the classification of animal viruses.
Nature (Lond.), 1961, **190**, 302-305.
41. Coraggio (F.), Valorosso (L.), Solazzo (G.), Galeota (G.). — Influenza degli steroidi di tipo cortisonico sulla attivita citopatogena virale in culture di tessuto. I - Studio dell' effeto del prednisolone sulla attivita citopatogena del virus Coxsackie B2 (ceppo Ohio).
Riv. Ist. sieroter. ital., 1960, **35**, 627-633.
41 bis. Cords (C.E.), Holland (J.J.). — Alteration of the species and tissue specificity of poliovirus by enclosure of its RNA within the protein capsid of Coxsackie B_4 virus.
Virology, 1964, **24**, 492-494.
42. Crandell (R.A.), Herman (Y.F.), Ganaway (J.R.), Niemann (W.H.). — Susceptibility of primary cultures of feline renal cells to selected viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1961, **106**, 542-545.
43. Crowell (R.L.). — Specific viral interference in Hela cell cultures chronically infected with Coxsackie B5 virus.
J. Bact., 1963, **86**, 517-526.
44. Crowell (R.L.), Syverton (J.T.). — Cytopathogenic effect of Coxsackie viruses in human epithelial cell cultures.
Fed. Proc., 1954, **13**, 489.
45. Crowell (R.L.), Syverton (J.T.). — The viral range in vitro of a malignant, human epithelial cell (Strain Hela, Gey). IV. - The cytopathogenicity of Coxsackie viruses.
J. Immunol., 1955, **74**, 169-177.
46. Crowell (R.L.), Syverton (J.T.). — The mammalian cell-virus relationship. VI. Sustained infection of Hela cells by Coxsackie B_4 virus and effect on superinfection.
J. exp. Med., 1961, **113**, 419-435.
47. Crowther (D.), Melnick (J.L.). — Studies of the inhibitory action of guanidine on poliovirus multiplication in cell cultures.
Virology, 1961, **15**, 65-74.
48. Dalldorf (G.). — The Coxsackie group of viruses.
Science, 1949, **110**, 594.
49. Dalldorf (G.). — Coxsackie viruses.
Bull. N.Y. Acad. Med., 1950, **26**, 329-335.
50. Dalldorf (G.). — The sparing effect of Coxsackie virus infection on experimental poliomyelitis.
J. exp. Med., 1951, **94**, 65-71.
51. Dalldorf (G.). — The Coxsackie viruses.
Ann. Rev. Microbiol., 1955, **9**, 277-296.
52. Dalldorf (G.). — Brief review of Coxsackie viruses in 1956.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 209-211.
53. Dalldorf (G.), Gifford (R.). — Adaptation of group B Coxsackie virus to adult mouse pancreas.
J. exp. Med., 1952, **96**, 491-497.

54. Dalldorf (G.), Gifford (R.). — Susceptibility of gravid mice to Coxvirus infection. *J. exp. Med.*, 1954, **99**, 21-27.
55. Dalldorf (G.), Melnick (J.L.), Curnen (E.C.). — The Coxsackie virus group. *In: Viral and Rickettsial infections of man.* Rivers (T.M.) et Horsfall (F.L.) Philadelphia, ed. J.B. Lippincott, 1959, ed. 3rd, p. 519-546.
56. Dalldorf (G.), Sickles (G.M.). — An unidentified filtrable agent isolated from the feces of children with paralysis.
Science, 1948, **108**, 61-62.
57. Dalldorf (G.), Sickles (G.M.), Plager (H.), Gifford (R.). — A virus recovered from the feces of « poliomyelitis » patients pathogenic for suckling mice.
J. exp. Med., 1949, **89**, 576-582.
58. Delpy (J.). — Le groupe des virus Coxsackie. - Contribution à l'étude expérimentale, clinique et épidémiologique. Bordeaux, impr. Union Française d'Impression, 1953, 133p. (*Thèse Méd.*, Bordeaux, 1953).
59. Delville (J.P.), Pattyn (S.R.). — Isolement de deux souches de virus Coxsackie pathogènes pour la souris adulte.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1957, **37**, 51-61.
60. Dempster (G.), Grodums (E.I.), Spencer (W.A.). — Experimental Coxsackie B3 infection in the hibernating squirrel and bat.
Canad. J. Microbiol., 1961, **7**, 587-594.
61. Dineen (J.K.). — The pancreatic lesion in adult mice infected with a strain of pleurodynia virus. II. - Virus titres in the pancreas and their correlation with blood virus levels and morphological changes.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1954, **32**, 489-497.
62. Dineen (J.K.), Barter (R.A.). — Studies on the pathogenicity to adult mice of a virus isolated from a case of pleurodynia.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1953, **31**, 377-397.
63. Dineen (J.K.), Hilton (J.), Robertson (J.S.). — The pancreatic lesion in adult mice infected with a strain of pleurodynia virus. IV. - Further studies upon the response of the pancreas to the simultaneous production of amylase and virus.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1956, **34**, 43-47.
64. Dineen (J.K.), Robertson (J.S.). — The pancreatic lesion in adult mice infected with a strain of pleurodynia virus. III. - The response of the pancreas to the simultaneous production of amylase and virus.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1955, **33**, 567-578.
65. Drouhet (V.). — Etude comparative de la sensibilité des cultures de tissu rénal de Cercopithecus aethiops sabaeus et de Macacus Philippinensis aux virus poliomyélitiques et aux autres virus entériques humains.
Ann. Inst. Pasteur, 1955, **89**, 666-671.
66. Dulbecco (R.). — Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus.
Proc. nat. Acad. Sci., 1952, **38**, 747-752.
67. Duncan (I.B.R.). — Human thyroid tissue culture in diagnostic virology.
Arch. ges. Virusforsch., 1961, **10**, 490-500.
68. Duncan (I.B.R.), Bell (E.J.). — Human amnion tissue culture in the routine virus laboratory.
Brit. med. J., 1961, **3**, 863-866.
69. Dunnebacke (T.H.). — Amounts of polio and Coxsackie viruses within the separate portions of bisected cultured cells.
Virology, 1962, **16**, 392-397.
70. Eggers (H.J.), Tamm (I.). — Selektive Hemmung der Vermehrung von Enteroviren durch 2 (*a*-hydroxybenzyl) benzimidazol.
Z. Hyg. Infektkr., 1961, **147**, 588-594.
71. Eggers (H.J.), Tamm (I.). — Spectrum and characteristics of the virus inhibitory action of 2 (*a*-hydroxybenzyl) benzimidazole.
J. exp. Med., 1961, **113**, 657-682.
72. Eggers (H.J.), Tamm (I.). — 2 (*a*-hydroxybenzyl) benzimidazole as an aid in virus classification.
Virology, 1961, **13**, 545-546.

73. Eggers (H.J.), Tamm (I.). — On the mechanism of selective inhibition of Enterovirus multiplication by 2 (α-hydroxybenzyl) benzimidazole.
Virology, 1962, **18**, 426-438.
74. Enders (J.F.). — Cytopathology of virus infections.
Ann. Rev. Microbiol., 1954, **8**, 473-502.
75. Enders (J.F.). — Discussion on Coxsackie viruses. In: Viruses in Search of diseases.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 941-947.
76. Enders (J.F.), Weller (T.H.), Robbins (F.C.). — Cultivation of the Lansing strain of polio-virus in cultures of various human embryonic tissues.
Science, 1949, **109**, 85-87.
77. Feldman (H.A.), Wang (S.S.). — Sensitivity of various viruses to chloroform.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1961, **106**, 736-738.
78. Finch (J.T.), Klug (A.). — Structure of poliomyelitis virus.
Nature, 1959, **183**, 1709-1714.
79. Fogh (J.), Stuart (D.C.). — Intracytoplasmic crystalline and noncrystalline patterns of Coxsackie virus in FL cells.
Virology, 1959, **9**, 705-708.
80. Fogh (J.), Stuart (D.C.). — Formation of polio and Coxsackie virus in FL cells.
Fed. Proc., 1960, **19**, 404.
81. Foliguet (J.M.). — Signification des virus dans les eaux résiduaires en relation avec la pollution de l'eau.
Rev. Cps. Santé Armées, 1962, **3**, 525-532.
81 bis. Gavrilov (V.I.), Shekochikhina (E.A.) — Negativnye kolonii virusov Koksaki v tipov 1-6 na kul'turakh perevivaemykh kletok KEM-1 i NEV.
Vop. Virus., 1964, **9**, 714-718.
82. Gevaudan (P.), Charrel (J.), Aldighieri (R.), Aldighieri (J.), Sautet (J.). — De l'utilisation des nymphes d'Ornithodores pour l'étude du titre infectant des virémies. Application dans la maladie expérimentale du souriceau infecté par le virus Coxsackie.
Arch. Inst. Pasteur, Maroc, 1962, **6**, 313-317.
83. Gey (G.O.), Bang (F.B.). — Experimental studies on the cultural behavior and the infectivity of lymphopathia venerea virus maintened in tissue culture.
Bull. Johns Hopk. Hosp., 1939, **65**, 393-409.
84. Gifford (R.), Dalldorf (G.). — Creatinin, potassium and virus content of the muscles following infection with the Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1949, **71**, 589-592.
85. Gifford (R.), Dalldorf (G.). — The morbid anatomy of experimental Coxsackie virus infection.
Amer. J. Path., 1951, **27**, 1047-1063.
86. Gioannini (P.). — Il sodio ed il potassio muscolari nelle infezioni sperimentali da virus Coxsackia di tipo B.
Atti. Accad. Fisiocr., 1956, **3**, 23-25.
87. Gioannini (P.), Camarri (E.). — Ricerche sull'azione citopatogena in cultura di tessuti dei virus Coxsackie classici e di alcuni ceppi isolati in Italia.
Boll. Ist. sieroter. Milan., 1957, **36**, 236-242.
88. Gioannini (P.), Contu (L.), Camarri (E.), Marcolongo (R.). — Il ricambio dei corpi creatinici nei topi neonati infettati con virus Coxsackie.
Riv. Ist. sieroter ital., 1957, **32**, 118-127.
89. Girardi (A.J.), Hummeler (K.), Olshin (I.). — Studies on the routine laboratory diagnosis of Coxsackie group B virus infections. I. The application of tissue culture procedures.
J. Lab. clin. Med., 1957, **50**, 526-533.
90 Godenne (M.O.), Curnen (E.C.). — Propagation of Coxsackie virus on the chorioallantoic membrane of embryonated eggs.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 81-85.
91. Godman (G.C.), Bunting (H.), Melnick (J.L.). — The histopathology of Coxsackie virus infection in mice. I. Morphologic observations with four different viral types.
Amer. J. Path., 1952, **28**, 223-257.

92. Goldfield (M.), Srihongse (S.), Fox (J.P.). — Hemagglutinins associated with certain human enteric viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1957, **96**, 788-791.
93. Grasset (N.). — Recherche des antigènes des virus Coxsackie B au moyen de la précipitation en gel.
Ann. Inst. Pasteur, 1962, **103**, 917-920.
94. Grenier (B.). — *Les myocardites aiguës primitives de l'enfant et les virus Coxsackie.*
Paris, Masson, 1958, 145 p.
95. Grodums (E.I.), Dempster (G.). — The age factor in experimental Coxsackie B3 infection.
Canad. J. Microbiol., 1959, **5**, 595-604.
96. Grodums (E.I.), Dempster (G.). — Myocarditis in experimental Coxsackie B3 infection.
Canad. J. Microbiol., 1959, **5**, 605-615.
97. Grodums (E.I.), Dempster (G.). — Encephalitis in experimental Coxsackie B3 infection.
Canad. J. Microbiol., 1961, **7**, 175-183.
98. Grodums (E.I.), Dempster (G.). — The pathogenesis of Coxsackie group B viruses in experimental infection.
Canad. J. Microbiol., 1962, **8**, 105-113.
99. Grodums (E.I.), Dempster (G.). — Brown fat lesions and regeneration in experimental Coxsackie B1 virus infection and after localized freezing.
Canad. J. Microbiol., 1963, **9**, 891-897.
100. Grodums (E.I.), Dempster (G.), Spencer (W.A.). — Experimental Coxsackie group B virus infections.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 160-166.
101. Grunberg (G.), Prince (H.N.). — Lethal infection of adult mice with Coxsackie B1 virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1963, **114**, 494-496.
102. Grunberg (G.), Prince (H.N.). — Effects of source, sex and gnotobiosis on susceptibility of adult mice to Coxsackie B1 virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1964, **116**, 1007-1008.
103. Gruner (J.E.), Lavillaureix (J.). — Sur quelques encéphalites virales expérimentales et leur histopathologie fine.
In: *Les Encéphalites à virus*, Paris, Masson, 1963, p. 245-273.
104. Guerin (F.), Guérin (M.M.). — Susceptibility of pig kidney tissue cultures to certain viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1957, **96**, 322-323.
105. Halonen (P.), Huebner (R.J.), Turner (H.C.). — Preparation of ECHO complement fixing antigens in monkey kidney tissue culture and their purification by fluorocarbon.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1958, **97**, 530-535.
106. Halonen (P.), Rosen (L.), Huebner (R.J.). — Homologous and heterologous complement fixing antibody in persons infected with ECHO, Coxsackie and poliomyelitis viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1959, **101**, 236-241.
107. Hammon (W.M.), Yohn (D.S.), Ludwig (E.H.), Pavia (R.A.), Sather (G.E.), Mac Closkey (L.W.). — A study of certain non poliomyelitis and poliomyelitis enterovirus infections. Clinical and serologic associations.
J. Amer. med. Ass., 1958, **167**, 727-734.
108. Hammon (W.M.), Yohn (D.S.), Pavia (R.A.). — Isolation and characterization of prototype viruses ECHO26, ECHO27 and Coxsackie B6.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1960, **103**, 164-168.
109. Hamparian (V.V.), Hilleman (M.R.), Ketler (A.). — Contributions to characterization and classification of animal viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1963, **112**, 1040-1050.
110. Handler (A.H.), Foley (G.E.). — Growth of human epidermoïd carcinomas (Strains KB and Hela) in hamsters from tissue culture inocula.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1956, **91**, 237-240.

111. Hayflick (L.), Moorhead (P.S.). — The serial cultivation of human diploïd cell strains.
Exp. Cell. Res., 1961, **25**, 585-621.
112. Heineberg (H.), Gold (E.), Robbins (F.C.). — Differences in interferon content in tissues of mice of various ages infected with Coxsackie B1 virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1964, **115**, 947-953.
113. Himmelweit (F.), Findlay (G.M.), Howard (E.M.). — The size of Coxsackie viruses as estimated by filtration through gradocol membranes.
Brit. J. exp. Path., 1950, **31**, 809-812.
114. Holland (J.J.). — Receptor affinities as major determinants of enterovirus tissue tropisms in humans.
Virology, 1961, **15**, 312-326.
115. Holland (J.J.), McLaren (L.C.). — The location and nature of enterovirus receptors in susceptible cells.
J. exp., Med., 1961, **114**, 161-171.
116. Holland (J.J.), McLaren (L.C.), Syverton (J.T.). — The mammalian cell-virus relationship. IV. Infection of naturally insusceptible cells with enterovirus ribonucleic acid.
J. exp. Med., 1959, **110**, 65-80.
117. Horne (R.W.), Wildy (P.). — Symmetry in Virus architecture.
Virology, 1961, **15**, 348-373.
118. Howes (D.W.). — The relationship of age to the susceptibility of mice to two viruses of the Coxsackie group.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1952, **30**, 423-436.
119. Howes (D.W.). — Studies of Coxsackie viruses. I. Comparison of age susceptibility relationships in mice.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 1954, **32**, 253-264.
120. Howes (D.W.). — Intravital staining in titrations of group B Coxsackie viruses in weaned mice.
Nature, 1954, **173**, 270-271.
121. Howitt (B.F.), Nichols (V.J.). — Inoculation of Cynomolgus monkeys with Coxsackie virus alone, combined or with poliomyelitis virus.
J. Immunol., 1952, **68**, 599-608.
122. Hsiung (G.D.). — Use of human kidney cultures in the study of Enteroviruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **102**, 612-616.
123. Hsiung (G.D.). — Applications of primary cell cultures in the study of animal viruses. III. Biological and genetic studies of enteric viruses of man.
Yale J. Biol. Med., 1961, **33**, 359-371.
124. Hsiung (G.D.), Melnick (J.L.). — Plaque formation with Poliomyelitis, Coxsackie and Orphan viruses in bottle cultures of monkey epithelial cells.
Virology, 1955, **1**, 533-535.
125. Hsiung (G.D.), Melnick (J.L.). — Morphologic characteristics of plaque produced on monkey kidney monolayer cultures by enteric viruses (Poliomyelitis, Coxsackie, ECHO groups).
J. Immunol., 1957, **78**, 128-137.
126. Hsiung (G.D.), Melnick (J.L.). — Comparative susceptibility of kidney cells from different monkey species to enteric viruses (Poliomyelitis, Coxsackie and ECHO groups).
J. Immunol., 1957, **78**, 137-146.
127. Hsiung (G.D.), Melnick (J.L.). — Adsorption, multiplication and cytopathogenicity of enteroviruses (poliomyelitis, Coxsackie and ECHO groups) in susceptible and resistant monkey kidney cells.
J. Immunol., 1958, **80**, 45-52.
128. Huebner (R.J.), Armstrong (G.), Beeman (E.A.). — Studies of Coxsackie viruses.
J. Amer. med. Ass., 1950, **144**, 609-613.
129. Huebner (R.J.), Ransom (S.E.), Beeman (E.A.). — Studies of Coxsackie viruses. Adaptation of a strain to chick embryo.
Publ. Hlth. Rep. (Wash.), 1950, **65**, 803-806.

130. Icelis (F.G.). — [Characteristics of Coxsackie B3 virus. Its characteristics in tissue culture.]
Vop. Virus, 1962, **1**, 100-104.
[Its pathogenicity for mice of different ages and growth in animal body.]
Vop. Virus., 1962, **2**, 189-192.
131. Johnsson (T.), Lavender (J.F.), Hultin (E.), Rasmussen (A.F.). — The influence of avoidancelearning stress on resistance to Coxsackie B virus in mice.
J. Immunol., 1963, **91**, 569-575.
132. Johnsson (T.), Lundmark (C.). — A histopathological study of Coxsackie virus infections in mice.
Arch. ges. Virusforsch., 1955, **6**, 262-281.
133. Johnsson (T.), Lycke (E.), Wictorin (B.), Jonsson (B.). — Studies of an epidemic of aseptic meningitis associated with Coxsackie and ECHO viruses. II. Serological and clinical observations.
Arch. ges. Virusforsch., 1958, **8**, 285-295.
134. Jordan (W.S.). — Human nasal cells in continuous culture. 1. Etablishment of two lines of epithelial like cells.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1956, **92**, 867-871.
135. Kalter (S.S.), Fuentes-Marins (R.A.), Rodriguez (A.R.), Hellman (A.), Crandell (R.A.), Werthessen (N.T.). — Susceptibility of baboon (Papio doguera) kidney cells to human Enteroviruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, **111**, 337-340.
136. Kaplan (A.S.), Melnick (J.L.). — Oral administration of Coxsackie viruses to newborn and adult mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1951, **76**, 312-315.
137. Kaplan (A.S.), Melnick (J.L.). — Effect of milk and other dairy products on the thermal inactivation of Coxsackie viruses.
Amer. J. publ. Hlth., 1954, **44**, 1174-1184.
138. Kelly (S.), Sanderson (W.W.). — The effect of chlorine in water on enteric viruses.
Amer. J. publ. Hlth., 1958, **48**, 1323-1334.
139. Kelly (S.), Sanderson (W.W.). — The effect of chlorine in water on enteric viruses. II. The effect of combined chlorine on poliomyelitis and Coxsackie viruses.
Amer. J. publ. Hlth., 1960, **50**, 14-20.
140. Kern (J.), Rosen (L.). — Factors affecting hemagglutination by Enteroviruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1964, **115**, 536-541.
141. Kilbourne (E.D.), Horsfall (F.L.). — Lethal infection with Coxsackie virus of adult mice given cortisone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1951, **77**, 135-138.
142. Kilbourne (E.D.), Perrier (D.), Wilson (C.). — The induction of myocardial lesions by a Coxsackie (pleurodynia) virus and cortisone.
J. Lab. clin. Med., 1953, **42**, 826-827.
143. Kilbourne (E.D.), Wilson (C.B.), Perrier (D.). — The induction of gross myocardial lesions by a Coxsackie (pleurodynia) virus and cortisone
J. clin. Invest., 1956, **35**, 362-370.
144. King (M.K.). — Production of fever in rabbits with extracts of tissue culture cells infected with Coxsackie virus.
J. Lab. clin. Med., 1962, **59**, 986-992.
145. King (M.K.). — Pathogenesis of fever in rabbits following intravenous infection of Coxsackie virus.
J. Lab. clin. Med., 1964, **63**, 23-29.
146. Kraft (L.M.). — Occurrence of Coxsackie virus complement fixing antibodies in sera of normal monkeys.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **80**, 498-502.
147. Kraft (L.M.), Melnick (J.L.). — Complement fixation test with homologous and heterologous types of Coxsackie viruses in man.
J. Immunol., 1952, **68**, 297-310.

148. Kraft (L.M.), Melnick (J.L.). — Quantitative studies of the virus-host relationship in chimpanzees after inapparent infection with Coxsackie viruses.
I. The virus carrier state and the development of neutralizing antibodies.
J. exp. Med., 1953, **97**, 367-400.
II. The development of complement-fixing antibodies.
J. exp. Med., 1953, **97**, 401-414.

149. Kunin (C.M.). — Virus tissue union and the pathogenesis of enterovirus infections.
J. Immunol., 1962, **88**, 556-569.

150. Kunz (L.J.), Richardson (S.), Pappenheimer (A.M.). — Pancreatic disease in mothers of suckling mice infected with Connecticut n° 5 strain of Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **79**, 488-491.

151. Lehmann-Grubbe (F.), Syverton (J.T.). — Pathogenicity for suckling mice of Coxsackie viruses adapted to human amnion cells.
J. exp. Med., 1961, **113**, 811-829.

152. Lenahan (M.F.), Wenner (H.A.). — Propagation of entero and other viruses in renal cells obtained from non-primate hosts.
J. infect. Dis., 1960, **107**, 203-212.

153. Lennette (E.H.), Schmidt (N.J.), Magoffin (R.L.). — Observations on the complement fixing antibody response to poliovirus in patients with certain Coxsackie and ECHO virus infections.
J. Immunol., 1961, **86**, 552-560.

154. Lennette (E.H.), Shinomoto (T.), Schmidt (N.J.), Magoffin (R.L.). — Observations on the neutralizing antibody response to group B Coxsackie viruses infections in patients with central nervous system disease.
J. Immunol., 1961, **86**, 257-266.

155. Lennette (E.H.), Wiener (A.), Hoshiwara (I.), Woodie (J.), Magoffin (R.L.). — A comparative study of monkey kidney cell cultures and suckling mice for the recovery of enterovirus from patients with central nervous system disease.
J. Lab. clin. Med., 1961, **58**, 634-643.

156. Lepine (P.). — Le virus Coxsackie et ses rapports avec la maladie de Bornholm.
Sem. Hôp. Paris, 1953, **69**, 3533-3538.

157. Lepine (P.). — *Techniques de laboratoire en virologie humaine.*
Paris, Masson, 1964, 831 p.

158. Lepine (P.), Chaumont (L.), Blusson (J.). — Sensibilité du mérion aux virus Coxsackie.
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 648-650.

159. Lepine (P.), Desse (G.), Sautter (V.). — Biopsies musculaires avec examen histologique et isolement du virus Coxsackie chez l'homme atteint de myalgie épidémique.
Bull. Acad. nat. Méd. (Paris), 1952, **136**, 66-68.

160. Lerner (A.M.), Takemoto (K.K.), Shelokov (A.). — Human chorion cells: cultivation and susceptibility to viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1957, **95**, 76-80.

161. Levaditi (C.). — Un nouvel ultra-virus (virus de Coxsackie) associé à celui de la poliomyélite.
Sem. Hôp. Paris, 1950, **88**, 4541-4544.

162. Levaditi (C.). — La coelogénèse névraxique du virus Coxsackie.
Ann. Inst. Pasteur, 1951, **81**, 260-274.

163. Levaditi (C.), Henry-Eveno (J.). — Affinités neurotropes de la souche Coxsackie B et myotropes de la souche A type 1 du même virus chez les souriceaux nouveau-nés.
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 751-753.

164. Levaditi (C.) et Lepine (P.). — *Les « Ultra-virus des maladies humaines »*.
Paris, Maloine, 1948, 1663 p.

165. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Dunoyer (F.). — Sort du virus encéphalitogène Coxsackie inoculé dans l'encéphale de souris adultes.
Bull. Acad. Sci., 17 déc. 1951.

166. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Henry-Eveno (J.). — Mécanisme de la réceptivité des souriceaux nouveau-nés et de la résistance des souris adultes à l'égard de l'ultravirus Coxsackie type neurotrope B.
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 754-756.
167. Lou (T.Y.), Wenner (H.A.), Kalitsuka (P.S.). — Experimental infections with Coxsackie viruses. II. Myocarditis in cynomolgus monkeys infected with B4 virus.
Arch. ges. Virusforsch., 1961, **10**, 451-464.
168. Love (R.), Suskind (R.G.), Huebner (R.J.). — Regression of Hela tumors in Cortisone-treated irradiated rats following infection with Coxsackie B3 virus. A histological and cytochemical study.
J. nat. Cancer. Inst., 1957, **19**, 49-77.
169. Lwoff (A.), Horne (R.W.), Tournier (P.). — Un système de virus.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1962, **254**, 4225-4227.
170. Lwoff (A.), Lwoff (M.). — Sur les facteurs du développement viral et leur rôle dans l'évolution de l'infection.
Ann. Inst. Pasteur, 1960, **98**, 173-203.
171. Lwoff (A.), Tournier (P.), Carteaud (J.P.). — L'influence de l'hyperthermie provoquée sur l'infection poliomyélitique de la souris.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1959, **248**, 1876-1878.
172. Lycke (E.). — Cultivation of the Coxsackie virus subgroup B in cultures of human embryonic tissues.
Arch. ges. Virusforsch., 1956, **6**, 412-422.
173. Lycke (E.), Lund (E.), Hultgardh (A.). — The sensitivity of suckling mice and tissue cultures for isolation of Coxsackie B viruses.
Arch. ges. Virusforsch., 1959, **9**, 443-448.
174. Mac Allister (R.M.), Coriell (L.L.). — Cultivation of human epithelial cells in tissue cultures.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1956, **91**, 389-394.
175. Mac Laren (A.), Sanders (F.K.). — The influence of the age of the host on local virus multiplication and on the resistance to virus infection.
J. Hyg. 1959, **57**, 106-122.
176. Marchetti (G.E.), Gelfand (H.M.). — Use of Hep-2 cells for grouping Enteroviruses.
Publ. Hlth. Rep., 1963, **78**, 813-817.
177. Marcolongo (F.), Carcassi (U.), Tuveri (A.). — Alterazioni elettrocardiografiche sperimentali in topini inoculati con virus Coxsackie (A4-B1).
Riv. Ist. sieroter. ital., 1956, **31**, 282-286.
178. Matheka (H.D.), Mayr (A.), Bogel (K.). — Die trypsinresistenzprüfung zur differenzierung kleiner, chloroform stabiler virusarten.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1962, **187**, 137-143.
179. Mattern (C.F.T.), Chi (L.L.). — Studies on the sites and kinetics of Coxsackie A9 virus multiplication in the monkey kidney cell.
Virology, 1962, **18**, 257-265.
180. Mattern (C.F.T.), Dubuy (H.G.). — Purification and crystallization of Coxsackie virus.
Science, 1956, **123**, 1037-1038.
181. Mayer (V.). — Lipotropismus von Coxsackie-virus (type B1) bei ausgewachsenen weissen Mâusen.
Arch. ges. Virusforsch., 1959, **9**, 282-287.
182. Melnick (J.L.). — Studies on Coxsackie virus: properties, immunological aspect and distribution in nature.
Bull. N.Y. Acad. Med., 1950, **26**, 342-356.
183. Melnick (J.L.). — Advances in the study of enteroviruses.
Progr. med. Virol. Karger, Basel/New-York, 1958, Vol. 1, p. 59-105.
184. Melnick (J.L.). — Enteroviruses.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1962, **101**, 331-342.
185. Melnick (J.L.), Chanock (R.M.), Gelfand (H.), Hammon (W.M.), Huebner (R.J.), Rosen (L.), Sabin (A.B.), Wenner (H.A.). — Picornaviruses: classification of nine new types.
Science, 1963, **141**, 153-154.

186. Melnick (J.L.), Godman (G.C.). — Pathogenesis of Coxsackie virus infection. Multiplication of virus and evolution of the muscle lesion in mice.
J. exp. Med., 1951, **93**, 247-266.
187. Melnick (J.L.), Ledinko (N.). — Infection of Cynomolgus monkeys with the Ohio type of Coxsackie virus.
J. Immunol., 1950, **64**, 101-110.
188. Melnick (J.L.), Ledinko (N.), Kaplan (A.S.), Kraft (L.M.). — Ohio strains of virus pathogenic for infant mice (Coxsackie group): simultaneous occurrence with poliomyelitis virus in patients with "Summer grippe".
J. exp. Med., 1950, **91**, 185-195.
189. Melnick (J.L.), Rhian (B.), Warren (J.), Breese (S.S.). — The size of Coxsackie viruses and Lansing poliomyelitis virus determined by sedimentation and ultrafiltration.
J. Immunol., 1951, **67**, 151-162.
190. Melnick (J.L.), Shaw (E.W.), Curnen (E.C.). — A virus isolated from patients diagnosed as non-paralytic poliomyelitis or aseptic meningitis.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1949, **71**, 344-349.
191. Mietens (C.), Hummeler (K.), Henle (W.). — Recall of complement fixing antibodies to enteroviruses in guinea pigs.
J. Immunol., 1964, **92**, 17-23.
192. Monaci (V.), Albano (A.), Salvaggio (L.). — Sull'attivita citopatogena di alcuni tipi di virus Coxsackie nelle culture su tessuto.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1956, **31**, 289-294.
193. Morgan (C.), Howe (C.), Rose (H.M.). — Intracellular crystals of Coxsackie virus viewed in the electron microscope.
Virology, 1959, **9**, 145-149.
194. Neva (F.A.), Malone (M.F.). — Specific and cross reactions by complement fixation with Boston exanthem disease virus (ECHO 16).
J. Immunol., 1959, **83**, 645-652.
195. Nunez-Monteil (O.), Vitelli-Flores (J.), Weibel (J.). — Finding of virus particles in cultivated monkey kidney cells infected with Coxsackie virus B5.
Virology, 1961, **14**, 147-150.
196. Orfila (J.). — Sensibilité à différents virus des cultures de cellules rénales de souris.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1958, **152**, 342-343.
197. Paccaud (M.F.). — Adénovirus et entérovirus. Point de vue du virologue.
Rev. méd. Suisse rom., 1961, **81**, 379-394.
198. Pappenheimer (A.M.). — Fuchsinophile granules in the tissues of mice infected with the Connecticut-5 strain of Coxsackie virus.
J. exp. Med., 1952, **95**, 251-258.
199. Pappenheimer (A.M.), Daniels (J.B.), Cheever (F.S.), Weller (T.H.). — Lesions caused in suckling mice by certain viruses isolated from cases of so-called non paralytic poliomyelitis and of pleurodynia.
J. exp. Med., 1950, **92**, 169-190.
200. Pappenheimer (A.M.), Kunz (L.J.), Richardson (S.). — Passage of Coxsackie virus (Conn-5 strain) in adult mice with production of pancreatic disease.
J. exp. Med., 1951, **94**, 45-64.
201. Pappenheimer (A.M.), Kunz (L.J.), Richardson (S.). — Excretion of Coxsackie virus (Conn-5 strain) in the urine of infected mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1951, **77**, 405-407.
202. Peloux (Y). — Stérilisation de l'eau en ce qui concerne les virus.
Rev. Cps. Santé Armées, 1962, **3**, 501-505.
203. Philipson (L.), Bengtsson (S.). — Interaction of enteroviruses with receptors from erythrocytes and host cells.
Virology, 1962, **18**, 457-469.
204. Philipson (L.), Choppin (P.W.). — On the role of virus sulfhydryl groups in the attachement of Enteroviruses to erythrocytes.
J. exp. Med., 1960, **112**, 455-478.
205. Philipson (L.), Choppin (P.W.). — Inactivation of Enteroviruses by 2, 3 - Dimercaptopropanol (BAL).
Virology, 1962, **16**, 405-413.

206. Picornavirus Group.
Virology, 1963, **19**, 114-116.
207. Plager (H.). — The Coxsackie viruses.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1962, **101**, 390-397.
208. Pohjanpelto (P.). — Response of enteroviruses to cystine.
Virology, 1961, **15**, 225-230.
209. Portocala (R.). — Images électroniques des myofibrilles de souriceaux nouveau-nés au cours de l'infection à virus Coxsackie.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1959, **34**, 263-269.
210. Portocala (R.), Moscovici (O.). — Proteinogramme électrophorétique du muscle des souriceaux nouveau-nés. Modifications survenues au cours de l'infection à virus Coxsackie.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1958, **33**, 107-109.
211. Puck (T.T.), Cieciura (S.J.), Robinson (A.). — Genetics of somatic mammalian cells. III - Long term cultivation of euploïd cells from human and animal subjects.
J. exp. Med., 1958, **108**, 945-946.
212. Quigley (J.J.). — Ultra-centrifugation and ultra-filtration studies of Coxsackie viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1949, **72**, 434-435.
213. Rabin (E.R.), Hassan (S.A.), Jenson (A.B.), Melnick (J.L.). — Coxsackie virus B3 myocarditis in mice. An electron microscopic, immunofluorescent and virus-assay study.
Amer. J. Path., 1964, **1**, 775-797.
214. Ramos-Alvarez (M.), Sabin (A.B.). — Characteristics of poliomyelitis and other enteric viruses recovered in tissue culture from healthy american children.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1954, **87**, 655-661.
215. Rita (G.), Carcassi (U.). — Caratteristiche fondamentali dei virus Coxsackie. Stato attuale degli studi virologici in Italia.
G. Mal. infett., 1957, **9**, 795-819.
216. Rita (G.), Russi (M.), Fischer-Fantuzzi (L.), Dianzani (F.). — Culture in vitro di cellule amniotiche e coriali umane. Comportamento dei virus Coxsackie.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1956, **31**, 286-289.
217. Robba (L.), Virat (J.). — Les réactions croisées dans la déviation du complément pour le diagnostic sérologique des affections à entérovirus avec les antigènes Coxsackie groupe B et ECHO.
Ann. Inst. Pasteur, 1961, **100**, 524-530.
218. Robertson (J.S.). — The pancreatic lesion in adult mice infected with a strain of "Pleurodynia" virus. I. Electron microscopal observations.
Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 1954, **32**, 393-409.
219. Robinson (L.K.). — Effect of heat and of pH on strains of Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **75**, 580-582.
220. Rosen (L.), Kern (J.). — Hemagglutination and hemagglutination-inhibition with Coxsackie B viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1961, **107**, 626-628.
221. Sacerdote de Lustig (E.), Parodi (A.). — Action du virus de Coxsackie sur le muscle d'embryon de poulet cultivé « in vitro ».
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1954, **148**, 1648-1649.
222. Sacerdote de Lustig (E.), Teyssie (A.), Ugazio (D.). — Accion del virus de « Coxsackie B4 » sobre el lipoma humano « in vivo » e « in vitro ».
Rev. Soc. argent. Biol., 1958, **33**, 183-192.
Action du virus de Coxsackie B4 « in vitro » et « in vivo » sur le lipome humain.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1957, **151**, 1756.
223. Sandford (J.P.), Sulkin (S.E.). — The clinical spectrum of ECHO virus infection.
New Engl. J. Med., 1959, **261**, 1113-1122.
224. Schaffer (J.), Beamer (P.R.), Trexler (P.C.), Breidenbach (G.), Walcher (D.N.). — Response of germ-free animals to experimental virus monocontamination. I. Observation on Coxsackie B virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, **112**, 561-564.

225. Schmidt (N.J.), Dennis (J.), Frommhagen (L.H.), Lennette (E.H.). — Serologic reactivity of certain antigens obtained by fractionation of Coxsackie viruses in cesium chloride density gradients.
J. Immunol., 1963, **90**, 654-662.
226. Schmidt (N.J.), Lennette (E.H.). — Gel double diffusion studies with group B and group A, type 9 Coxsackie viruses.
I. The technique and reactions obtained with hyperimmuns animal sera and human sera.
J. Immunol., 1962, **89**, 85-95.
II. Serologic diagnosis of Coxsackie virus infections by the gel double diffusion technique.
J. Immunol., 1962, **89**, 96-105.
227. Shaver (D.N.), Barron (A.L.), Karzon (D.T.). — Cytopathology of human enteric viruses in tissue culture.
Amer. J. Pathol., 1958, **34**, 943-964.
228. Shaw (M.). — Cultivation of Coxsackie virus in embryonated eggs and in chick tissue cultures.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **79**, 718-720.
229. Shaw (E.D.), Newton (A.), Powell (A.W.), Friday (C.J.). — Fluorescent antigen antibody reactions in Coxsackie and ECHO enteroviruses.
Virology, 1961, **15**, 208-210.
230. Sickles (G.M.), Feorino (P.), Plager (H.). — Isolation and type determination of Coxsackie virus, group B, in tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1955, **88**, 22-24.
231. Slater (E.A.), Syverton (J.T.). — The cultivation of Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **74**, 509-511.
232. Sohier (R.). — Diagnostic des maladies à virus.
Paris, Flammarion, 1964, 927 p.
233. Somer (P. de), Prinzie (A.), Denys (P.), Schonne (E.). — Mechanism of action of Interferon. 1 - Relationship with viral ribonucleic acid.
Virology, 1962, **16**, 63-70.
234. Southam (C.M.), Moore (A.G.), Rhoads (C.P.). — Homotransplantation of human cell lines.
Science, 1957, **125**, 158-160.
235. Sprunt (K.), Redman (W.M.), Alexander (H.E.). — Infectious ribonucleic acid derived from Enteroviruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **101**, 604-608.
236. Steigman (A.J.). — Discussion on Coxsackie viruses. In: Viruses in Search of diseases.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 249-250.
237. Steigman (A.J.). — Poliomyelitis properties of certain non polio viruses; enteroviruses and Heine-Medin disease.
J. Mt. Sinaï Hosp., 1958, **25**, 391-404.
238. Strandstrom (H.), Sandelin (K.), Oker-Bloom (N.). — Inhibitory effect on Coxsackie virus, Influenza virus and Interferon on Rous Sarcoma virus.
Virology, 1962, **16**, 384-391.
239. Stuart (D.C.), Fogh (J.). — Micromorphology of FL cells infected with polio and Coxsackie viruses.
Virology, 1961, **13**, 177-190.
240. Stulberg (C.S.), Schapira (R.), Eidam (C.R.). — Virus growth in tissue culture fibroblasts. II. Coxsackie virus (group B) in cultures of mouse fat tissue.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 642-646.
241. Stulberg (G.S.), Schapira (R.), Eidam (C.R.). — Comparative characteristics of two Coxsackie viruses in tissue culture.
J. Immunol., 1954, **72**, 107-111.
242. Sulkin (S.E.), Manire (G.P.), Farmer (T.W.). — Cross-Neutralization tests with Coxsackie viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **73**, 340.
243. Sulkin (S.E.), Schwab (M.), Wallis (H.C.). — Isolation of Coxsackie viruses. Litter differences among suckling mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1951, **77**, 354-356.

244. Sulkin (S.E.), Wallis (H.C.). — Effect of ether on certain Coxsackie viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 151-152.
245. Sulkin (S.E.), Wallis (H.C.), Donaldson (P.). — Differentiation of Coxsackie viruses by altering susceptibility of mice with Cortisone.
J. infect. Dis., 1952, **91**, 290-296.
246. Sunaga (H.), Taylor (R.M.), Henderson (J.R.). — Comparative sensitivity of viruses to treatment with diethylether and sodium desoxycholate.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 1960, **9**, 419-424.
247. Suptel (E.A.). — Pathogenesis of experimental Coxsackie virus infection. Distribution of Coxsackie virus in mice after air-borne infection.
Acta virol., 1963, **7**, 61-66.
248. Suptel (E.A.), Maksimovic (N.A.). — The possibility of intrauterine infection with Coxsackie virus in mice inoculated by different routes.
Acta virol., 1964, **8**, 46-51.
249. Surjus (A.). — Effets du virus Coxsackie B3 sur la souris gestante. Sa transmission placentaire.
Ann. Inst. Pasteur, 1961, **100**, 825-827.
250. Surjus (A.P.M.). — Les maladies à virus Coxsackie en Alsace: étude générale fréquence et gravité au cours des années 1956 à 1961. (160 p. dactylogr.).
(*Thèse Méd., Strasbourg*, 1962).
251. Surjus (A.). — Les virus Coxsackie. Etude expérimentale sur la souris blanche avec le virus Coxsackie B3.
Path. et Biol., 1963, **11**, 162-172.
252. Suskind (R.G.), Huebner (R.J.), Rowe (W.P.), Love (R.). — Viral agents oncolytic for human tumors in heterologous host. Oncolytic effect of Coxsackie B viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1957, **94**, 309-318.
253. Syverton (J.T.). — Cellular response to viral infection.
Path. et Biol., 1961, **9**, 685-689.
254. Syverton (J.T.), Werder (A.A.), Friedman (J.), Roth (F.J.), Graham (A.B.), Mira (O.J.). — Cortisone and roentgen radiations in combination as synergistic agents for production of lethal infections.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **80**, 123-128.
255. Takemoto (K.K.), Lerner (A.M.). — Human amnion cell cultures; susceptibility to viruses and use in primary virus isolations.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1957, **94**, 179-182.
256. Tamm (I.), Eggers (H.J.). — Differences in the selective virus inhibitory action of 2 (alfa-hydroxybenzyl) benzimidazole and guanidine HCL.
Virology, 1962, **18**, 439-447.
257. Toolan (H.W.). — Growth of human tumors in cortisone — treated laboratory animals : possibility of obtaining permanently transplantable human tumors.
Cancer Res., 1953, **13**, 389-394.
258. Travassos (J.), Paola (D. de), Vasconcelos (J.V.) et coll. — Lesoes pilo-cutaneas de distribuiçao metamerica em camundongos inoculados com virus Coxsackie do grupo B.
Ann. Microbiol., 1956, **4**, 87-104.
259. Tyndall (R.L.), Ludwig (E.H.). — Nutritional requirements for the production of poliovirus type II, Coxsackie B3 and vaccinia viruses by continuous animal cell cultures.
J. Bact., 1960, **80**, 96-103.
260. Tyndall (R.L.), Ludwig (E.H.). — L-cystine requirement for production of Coxsackie B3 virus in cultured monkey heart cells.
J. Bact., 1963, **85**, 1339-1345.
261. Verlinde (J.D.), Ting (L.K). — Experimental infection of suckling-ferrets with viruses of the Coxsackie group isolated from cases of infantile gastroenteritis.
Antonie v. Leeuwenhoeck, 1954, **20**, 181-184.
262. Vezeaux de Lavergne (E. de). — Action des hormones cortico-surrénales sur les anticorps humoraux.
Nancy, impr. G. Thomas, 1953, 148 p. (*Thèse Méd. Nancy*, 1953).

263. Vizoso (A.D.), Sanders (F.K.). — Alteration of the pathogenicity of some group B Coxsackie viruses under different conditions of passage. I. Virus type 4.
Acta virol., 1964, **8**, 38-45.
264. Walker (D.L.), Boring (W.D.). — Factors influencing host-virus interactions. III. Further studies on the alteration of Coxsackie virus infection in adult mice by environmental temperature.
J. Immunol., 1958, **80**, 39-44.
265. Wallis (C.), Melnick (J.L.). — Cationic stabilization a new property of enteroviruses.
Virology, 1962, **16**, 504-506.
266. Weller (T.H.), Enders (J.F.), Buckingham (M.), Finn (J.J.). — The etiology of epidemic pleurodynia: a study of two viruses isolated from a typical outbreak.
J. Immunol., 1950, **65**, 337-346.
267. Weller (T.H.), Robbins (F.C.), Stoddard (M.B.). — Cultivation of Coxsackie viruses in human tissues.
Fed. Proc., 1952, **11**, 486.
268. Weller (T.H.), Robbins (F.C.), Stoddard (M.B.), Florentino (G.L.). — Propagation of Coxsackie viruses in cultures of human tissues.
J. Immunol., 1953, **71**, 92-97.
269. Wenner (H.A.). — Problems in working with enteroviruses.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1962, **101**, 343-356.
270. Wenner (H.A.), Lou (T.Y.), Kamitska (P.S.). — Experimental infections with Coxsackie viruses. I. Studies on virulence and pathogenesis in cynomolgus monkeys.
Arch. ges. Virusforsch., 1960, **10**, 426-450.
271. Wigand (R.), Sabin (A.B.). — Antigenic heterogenicity of Coxsackie B viruses.
Fed. Proc., 1958, **17**, 538.
272. Wigand (R.), Sabin (A.B.). — Intratypic antigenic heterogeneity of Coxsackie B viruses.
Arch. ges. Virusforsch, 1962, **12**, 29-41.
273. Wilson (W.B.). — Study of parotidis produced in weanling mice by Coxsackie B1 (Conn-5).
Fed. Proc., 1961, **20**, 440.
274. Wilson (W.B.), Cheatham (W.J.). — Alteration of salivary chloride secretion in weanling mice during infection with Coxsackie B1 (Conn-5) virus.
Amer. J. Path. 1962, **41**, 354-363.
275. Wilson (W.B.), Cheatham (W.J.). — Parotidis in weanling mice produced by Coxsackie B1 (Conn-5) virus.
Amer. J. Path., 1962, **41**, 415-424.
276. Zuschek (F.). — Influence of potassium on Coxsackie B2 virus growth in tissue cultures.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, **109**, 540-543.

ETUDE CLINIQUE

277. Abe (M.), Ishii (K.), Tomioka (S.), Terada (M.), Takeda (H.), Tajimi (H.), Imagawa (Y.), Ezaki (T.), Ugai (S.). — Syndromes neurologiques « d'étiologie virale ». Etude de 172 cas chez l'enfant.
Med. et Hyg., 1963, **21**, 886-888.
278. Agranat (A.L.). — A near-fatal case of Coxsackie B1 myocarditis (with pericarditis) in an adult.
S. Afr. med. J., 1961, **35**, 831-833.
279. Ajjan (N.), Bonissol (C.), Virat (J.), Carre (M.C.). — Les infections à virus à l'hôpital des Enfants-Malades. Etude statistique portant sur quatre années.
Path. et Biol. 1964, **12**, 1203-1210.
280. Arendt (A.), Bohm (W.). — Beitrag zur Coxsackie B4 enzephalitis.
Path. et Microbiol., 1964, **27**, 31-41.

281. Babb (J.M.), Stoneman (M.E.), Stern (H.). — Myocarditis and croup caused by Coxsackie virus type B5.
Arch. Dis. Childh., 1961, **36**, 551-556.
282. Bach (Ch.), Seringe (Ph.), Bocquet (L.). — L'infection à virus Coxsackie B du nouveau-né. Etude clinique et anatomique.
Sem. Hôp. Paris, 1961, **37**, 2883-2892.
283. Bacher (1896): cité par Sylvest (1934).
284. Bain (H.W.), Mc Lean (D.M.), Walker (S.J.). — Epidemic pleurodynia (Bornholm disease) due to Coxsackie B5 virus. The interrelationship of pleurodynia, benign pericarditis and aseptic meningitis.
Pediatrics, 1961, **27**, 889-903.
285. Banker (D.D.), Melnick (J.L.). — Isolation of Coxsackie virus from North Alaskan Eskimos.
Amer. J. Hyg., 1951, **54**, 383-390.
286. Bara (B.). — Bornholm's disease in the territory of Bytom.
Pol. Tyg. lek. 1957, **12**, 126-128.
287. Bayer (P.), Gear (J.). — Virus meningo-encephalitis in South Africa. A study of the cases admitted to the Johannesburg Fever Hospital.
S. Afr. J. Lab. clin. Med., 1955, **1**, 22-35.
288. Bell (J.F.), Meis (A.). — Pericarditis in infection due to Coxsackie virus group B, type 3.
New Engl. J. Med., 1959, **261**, 126-128.
289. Benirschke (K.), Kibrick (S.), Craig (J.M.). — The pathology of fatal Coxsackie infection in the newborn.
Amer. J. Path., 1958, **34**, 587.
290. Bing (H.I.). — Epidemical pericarditis.
Acta med. Scand., 1933, **80**, 29-33.
291. Blanchard (J.M.). — Une forme sévère de maladie « Coxsackie ». (68 p. dactylogr.).
(*Thèse Méd. Paris*, 1958).
292. Bogaert (R.). — Forme pleuro-pulmonaire et pseudo-péritonéale de la myalgie épidémique.
Presse méd., 1946, **64**, 881-883.
293. Bottiger (M.), Johnsson (T.), Zeipel (G. von). — Family infections with acute pericarditis and myocarditis by Coxsackie virus B5.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 153-155.
294. Bourguignon (A.). — La maladie de Bornholm ou myalgie épidémique.
Sem. Hôp. Paris, 1950, **26**, 2347-2348.
295. Bower (B.D.), Gerrard (J.), Mc Gregor (M.E.). — Acute benign pericarditis. A report of four cases in childhood.
Brit. med. J., 1953, **1**, 244-246.
296. Bozsick (G.). — Uber die histologischen Veränderungen in Nervensystem nach Infektion mit Coxsackie B3 im Säuglingsalter.
Dtsch. Z. Nervenheilk., 1959, **179**, 564-574.
297. Breton (A.). — Les formes pulmonaires et prolongées de la maladie de Bornholm.
J. franç. Méd. Chir. thor., 1953, **7**, 263-268.
298. Breton (A.), Taquet (A.). — Maladie de Bornholm. Les formes cliniques actuelles.
Vie méd. Paris, 1955, **36**, 229-237.
299. Brodie (H.R.), Marchessault (V.). — Acute benign pericarditis caused by Coxsackie virus group B.
New Engl. J. Med., 1960, **262**, 1278-1280.
300. Brown (C.M.). — La maladie de Bornholm et le virus Coxsackie.
Lancet, 1952, **262**, 445-446.
301. Bury (S.H.), Tobin (J. O'H.). — Maladie de Bornholm associée au virus de Coxsackie.
Lancet, 1952, **263**, 267-269.
302. Butler (N.), Skelton (M.O.), Hodges (G.M.), Mac Callum (F.O.). — Fatal Coxsackie B3 myocarditis in a newborn infant.
Brit. med. J., 1962, **2**, 1251-1252.

303. Caraman (Ż.). — Miozita Bornholm, fenomena extrapyramidale excitati psychomotoare si halucinaza pedunculare en exomenul coprovirusologic si testul de neutralizare pozitivo pentre virusal Coxsackie.
Neurol. Neurochir. Psychiat. pol. 1958, **6**, 507-510.
304. Carcassi (V.), Tuveri (A.). — Su due casi di pericardite acuta da Coxsackie B2.
G. Mal. infett., 1960, **12**, 75-77.
305. Mme Carré (C.), Mme Virat (J.), Maurin (J.). — L'infection à virus Coxsackie B du nouveau-né. A propos de 2 cas familiaux. II. Etude virologique.
Sem. Hôp. Paris, 1961, **37**, 2892-2895.
306. Caussade (L.), Neimann (N.), Simonin (J.), Mlle Grandjean. — L'asystolie aiguë essentielle du nourrisson.
Pédiatrie, 1953, **8**, 783-796.
307. Chaptal (J.), Jean (R.), Bonnet (H.), Mme Mandin, Mme D. Dossa. — Les infections à virus Coxsackie chez l'enfant.
Arch. franç. Pédiat., 1964, **21**, 629-633.
308. Cherry (J.D.). — Coxsackie B5 infections with exanthems.
Pediatrics, 1963, **31**, 455-462.
309. Chin (T.), Greene (J.C.), Wenner (H.A.). — Infection with Coxsackie virus B5 in six midwestern states.
Publ. Hlth. Rep. (Wash.), 1958, **73**, 563-567.
310. Chin (T.D.Y.), Lehan (P.H.), Rubin (H.), Doto (I.L.), Heeren (R.H.), Wenner (H.A.), Furcolow (M.L.). — Epidemiological studies of aseptic meningitis caused by Coxsackie virus B5.
Amer. J. publ. Hlth., 1958, **48**, 1193-1200.
311. Chin (T.D.Y.), Lehan (P.H.), Rubin (H.), Wenner (H.A.). — Epidemic infection with Coxsackie virus group B, type 5. II. Virus excretion and neutralizing antibody response.
Amer. J. Hyg., 1958, **67**, 321-330.
312. Clément (R.), Gerbeaux (J.), Couvreur (J.). — La fibroélastose endocardique.
Bull. Soc. méd. Hôp. Paris, 1952, **68**, 932-938.
313. Connolly (J.H.). — Myocarditis during Coxsackie B5 infection.
Brit. med. J., 1961, **1**, 877-878.
314. Content (J.), Godenne (M.). — Communication de 10 cas de pleurodynie épidémique, 2 cas de myalgie épidémique, 3 cas de méningite aseptique chez les enfants.
Brux. méd. 1951, **34**, 1766-1772.
315. Cooper (M.L.), Keller (H.M.). — Bacteriologic studies of epidemic pleurodynia.
Amer. J. Dis. Child., 1937, **54**, 231-239.
316. Couvreur (J.). — Les infections à virus Coxsackie.
Arch. ges. Virusforsch, 1963, **13**, 104-127.
317. Craighead (J.E.), Mahoney (E.M.), Carver (D.H.). — Orchitis due to Coxsackie virus group B, type 5. Report of a case with isolation of virus from the testis.
New Engl. J. Med., 1962, **267**, 498-500.
318. Cremer (H.J.). — Coxsackie-virus infektionen bei Neugeborenen unter besonderer Berücksichtigung der Enzephalomyokarditis.
Dtsch. med. Wschr., 1962, **87**, 2436-2438.
319. Curnen (E.C.). — Human disease associated with the Coxsackie viruses.
Bull. N.Y. Acad. Med., 1950, **26**, 335-342.
320. Curnen (E.C.), Melnick (J.L.). — Poliomyelitis and Coxsackie viruses in paralytic poliomyelitis.
Pediatrics, 1951, **8**, 237-248.
321. Curnen (E.C.), London (A.H.), Tanabe (E.), Glezen (W.P.), Koomen (J.). — An epidemic of aseptic meningitis attributable to Coxsackie B5 virus.
Amer. J. Dis. Child., 1958, **96**, 571-573.
322. Curnen (E.C.), Shaw (E.W.), Melnick (J.L.). — Disease resembling non paralytic poliomyelitis associated with a virus pathogenic for infant mice.
J. Amer. med. Ass., 1949, **141**, 894-901.
323. Daae (A.). — Epidemi i Drangedal of akut Muskelrheumatisme udbret ved Smitte.
Norsk. Mag. Laegevidensk., 1872, **2**, 409-413.

324. Dabney (W.C.). — Account of epidemic resembling dengue: which occurred in and around Charlottesville and University of Virginia, in june 1888.
Amer. J. med. Sci., 1888, **96**, 488-494.
325. Dagnelie (J.). — Myalgie épidémique (Maladie de Bornholm).
Acta clin. belg., 1946, **1**, 103-116.
326. Dalldorf (G.). — The enteroviruses and paralytic disease.
In: Viral infections of infancy and childhood. Symposium n° 10 of the section of microbiology of the New-York academy of medicine.
New-York, Rose (H.M.) éd., Hoeber-Harper, 1960, pp. 128-144.
327. Dalldorf (G.), Gifford (R.). — Clinical and epidemiologic observations of Coxsackie virus infection.
New Engl. J. Med., 1951, **244**, 868-873.
328. D'Allessandro (G.), Dardanoni (L.). — Bacterial and viral etiology of diarrheal diseases in infancy.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1961, **36**, 129-137.
329. Dalsgaard-Nielsen (T.). — Pericarditis in Sylvest-Bing's disease (acute epidemic myositis).
Ugeskr. Laeg., 1933, **95**, 522-524.
330. Dardanoni (L.), Zaffiro (P.), Gullo (A.). — Le infezioni enterovirale in una collettivita infantile sequite durante un anno.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1961, **36**, 177-202.
331. Delaney (T.B.), Fukunaga (F.H.). — Myocarditis in a newborn infant with encephalomeningitis due to Coxsackie virus group B, type 5.
New Engl. J. Med., 1958, **259**, 234-236.
332. Delville (J.P.), Pattyn (S.R.), Geukens (G.), Havard (N.): Méningite à virus Coxsackie.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1957, **37**, 63-65.
333. Delville (J.P.), Pattyn (S.R.), Van Dekeere (R.). — Epidémie de maladie de Bornholm due au virus de Coxsackie B, type 1 à Shinkolobwe.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 1960, **40**, 327-330.
334. Derrick (E.H.). — Coxsackie infection in Queensland.
Med. J. Austr., 1956, **1**, 961-966.
335. Desse (G.). — Maladie de Bornholm.
Sem. Hôp. Paris, 1953, **29**, 482-487- et 3539 et 3540.
336. Disney (M.E.), Howard (E.M.), Wood (B.S.B.), Findlay (G.M.). — Bornholm disease in children.
Brit. med. J., 1953, **1**, 1351-1354.
337. Domok (I.). — Virological aspects of Coxsackie virus infections.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 128-142.
338. Domok (I.), Molnar (E.). — An outbreak of meningoencephalo-myocarditis among newborn infants during the epidemic of Bornholm disease of 1958 in Hungary. II. Aetiological findings.
Ann. paediat., 1960, **194**, 102-113.
339. Domok (I.), Molnar (E.), Farkas (E.). — [Virological investigations into the Bornholm disease epidemic in Hungary in 1958 and an outbreak of neonatal myocarditis.]
Vop. Virus, 1960, **3**, 321-327.
340. Drouhet (V.). — Infections à virus entériques non poliomyélitiques et syndromes cliniques associés.
In: Association européenne contre la Poliomyélite; VIe Symposium, Munich, 7-9 sept. 1959. Masson éd., Paris, 1960, vol. 6, p. 155-160.
341. Drouhet (V.). — Infections à virus entériques chez les enfants et syndromes cliniques associés.
Ann. Inst. Pasteur. 1960, **98**, 562-568.
342. Duncan (D.), Rhodes (A.J.), Mc Naughton (G.A.), Johnson (C.R.), Wood (W.). — Aseptic meningitis: isolation of Coxsackie and unidentified cytopathogenic viruses from cerebro-spinal fluid by tissue culture methods.
Canad. J. publ. Hlth., 1955, **46**, 1-8.
343. Dunbury (A.E.), Warner (P.). — Epidemiological and laboratory investigations on Bornholm disease in Adelaïde 1957.
Med. J. Aust., 1958, **45**, 518-523.

344. Fechner (R.E.), Smith (M.G.), Middelkamp (J.N.). — Coxsackie B virus infection of the newborn.
Amer. J. Path., 1963, **42**, 493-503.
345. Felici (A.), Archetti (I.), Russi (F.), Bellochi (C.), Marzi (F.). — Contribution to the study of diseases caused by the Coxsackie B group of viruses in Italy. III. Role of Coxsackie B virus type 3 in summer diarrheal infections in infants and children.
Arch. ges. Virusforsch., 1962, **11**, 592-598.
346. Felici (A.)., Gregorig (B.). — Contribution to the study of diseases in Italy caused by the Coxsackie B group of viruses. II. Epidemiological, clinical and virological data obtained in the course or a summer outbreak caused by Coxsackie B3 virus.
Arch. ges. Virusforsch., 1959, **9**, 317-328.
347. Felici (A.), Archetti (I.), Russi (F.), Bellochi (C.), Marzi (F.). — Contributo allo studio delle malattie da virus Coxsackie. Manifestazione epidemica ad impracta diarroica causata da un virus Coxsackie tipo B3.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1960, **35**, 377-389.
348. Fiedler (A.). — Uber akute interstitielle myokarditis.
Article analysé dans: Zbl. inn. Med., 1900, **21**, 212.
349. Findlay (G.M.), Howard (E.M.). — Coxsackie viruses and Bornholm disease.
Brit. med. J., 1950, **1**, 1233-1236.
350. Finn (J.J.), Weller (T.H.), Morgan (H.R.). — Epidemic pleurodynia: clinical and etiologic studies based on 114 cases.
Arch. intern. Med., 1949, **83**, 305-321.
351. Finsen (J.). — Rheumatism of the muscles of the chest, pleurodyne.
1856 (cité par Sylvest).
352. Fletcher (E.), Brennan (C.F.). — Cardiac complications of Coxsackie virus infection.
Lancet, 1957, **1**, 913-915.
353. Fournier (A.). — Un cas de maladie de Coxsackie (Maladie de Bornholm) avec isolement du virus dans les selles.
Soc. med. Anatomo-clin. Lille, 26 mars 1952.
354. Friderichsen (C.). — Myocardite par Coxsackie comme cause de mort soudaine chez le nouveau-né et le nourrisson.
Rev. méd. Tours, 1962, **3**, 307-314.
355. Fruhling (L.), Adam (Ch.). — Etude anatomo-pathologique de la myo-endocardite chronique fibro-élastique du nourrisson.
Ann. Anat. path., 1956, **1**, 59-87.
356. Fruhling (L.), Korn (R.), Lavillaureix (J.), Surjus (A.), Foussereau (S.). — La myo-endocardite chronique fibro-élastique du nouveau-né et du nourrisson (fibro-élastose). Données morphologiques, étiologiques et pathogéniques nouvelles. Rapports avec certaines malformations cardiaques.
Ann. Anat. path., 1962, **7**, 227-303.
357. Gabinus (O.), Gard (S.), Johnsson (T.), Poldre (A.). — Studies on the etiology of epidemic pleurodynia (Bornholm disease). I. Clinical and virological observations.
Arch. ges. Virusforsch., 1952, **5**, 1-13.
358. Gaillard (L.), Delphin (D.), Brugiere (P.). — Les méningites virales du nouveau-né. A propos d'une observation de méningite à virus Coxsackie B3, sans manifestations encéphalitiques.
Sem. Hôp. (Ann. Pédiat.), Paris, 1964, **40**, 47-52.
359. Gaillard (L.), Delphin (D.), Gajfinger (M.)., Brugière (P.). — Méningite lymphocytaire et diarrhée gravissime néo-natales à virus Coxsackie groupe B type 3.
Pédiatrie, 1962, **17**, 84-96.
360. Galanda (V.), Mayerova (A.). — An mass outbreak of Bornholm's disease with the isolation of Coxsackie virus type B3.
Cs. Pediat., 1960, **15**, 1014-1021.
361. Galpine (J.F.), Macrae (A.D.). — An outbreak of benign meningoencephalitis. Isolation of Coxsackie virus.
Lancet, 1953, **1**, 372-376.

362. Gard (S.). — Aseptic meningitis and Coxsackie viruses.
J. Lancet, 1954, **74**, 299-304.
363. Gear (J.H.S.). — Poliomyelitis: *Papers and Discussions presented at the Third International Poliomyelitis Conference*. Philadelphia, J.B. Lippincott Co, 1955.
364. Gear (J.H.S.). — Coxsackie virus infections of the newborn.
Progr. med. Virol., 1958, **7**, 106-121.
365. Gear (J.H.S.), Measroch (V.), Prinsloo (F.R.). — The medical and public health importance of Coxsackie viruses.
S. Afr. med. J., 1956, **30**, 806-810.
366. Gerbeaux (J.), Couvreur (J.). — Les virus Coxsackie et ECHO dans la pathologie du nourrisson.
Rev. Prat. (Paris), 1960, **10**, 3269-3275.
367. Gibinski (K.), Makower (H.), Skurska (Z.), Bara (B.), Sypulowa (A.). — Bornholm disease in Upper Silesia.
Bull. O.M.S., 1960, **22**, 421-429.
368. Gillett (R.L.). — Acute benign pericarditis and the Coxsackie viruses.
New Engl. J. Med., 1959, **261**, 838-843.
369. Ginevri (A.), Felici (A.). — Contribution to the study of diseases in Italie caused by Coxsackie B group of viruses. I. Clinical and virological aspects of an outbreak of Bornholm disease.
Arch. ges. Virusforsch., 1959, **9**, 310-316.
370. Giovanardi (A.), Bergamini (P.). — Syndromes simulating poliomyelitis. Virologic and epidemiologic aspects.
In: Association européenne contre la Poliomyélite. VIe Symposium, Munich, 7-9 *sept.* 1959. Masson éd., Paris, 1960, vol. 6, p. 89-130.
371. Giovanardi (A.), Bergamini (F.), Giannelli (F.). — Paralytic syndromes due to enteroviruses in subjects vaccinated and non vaccinated against poliomyelitis.
In: Association européenne contre la Poliomyélite. VIIe Symposium, Oxford, 17-20 *sept.*, 1961. Masson éd., Paris, 1962, vol. 7, p. 216-219.
372. Glajchen (D.). — Myocarditis due to Coxsackie virus infection in an adult.
Brit. med. J., 1961, **5256**, 870-871.
373. Gordon (R.B.), Lennette (E.H.), Sandrock (R.S.). — Varied clinical manifestations of Coxsackie virus infections: observations and comments on outbreak in California.
Arch. intern. Med., 1959, **103**, 63-75.
374. Grenier (B.P.M.). — A la recherche de l'étiologie virale des myocardites aiguës primitives de l'enfance.
Paris, impr. R. Foulon, 1957, 148 p. (*Thèse Méd., Paris*, 1957).
375. Gsell (O.), Stadler (E.), Wiesman (E.). — Bornholmer Krankheit in Gais und Teufen.
Schweiz. med. Wschr., 1941, **71**, 83-89.
376. Gsell (O.). — Meningitis myalgica, Meningitis serosa bei Myalgia epidemica.
Schweiz. med. Wschr., 1949, **79**, 241-244.
377. Guthrie (N.). — Coxsackie B5 meningitis. Report of an outbreak in a high school football squad.
J. Tenn. med. Ass., 1962, **55**, 355-356.
378. Habel (K.), Silverberg (R.J.), Shelokov (A.). — Isolation of enteric viruses from cases of aseptic meningitis.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 223-229.
379. Hamburger (H.J.), Mc Neil (G.). — Epidemic myalgia or Bornholm disease in South India: review of 19 cases.
Lancet, 1947, **2**, 784-786.
380. Harder (F.K.). — Epidemic myalgia or pleurodynia in Southwestern Ohio.
Amer. J. med. Sci., 1936, **191**, 678-685.
381. Heckscher (H.). — Eleven cases of epidemic myositis associated with serositis.
Ugeskr. Laeg., 1933, **95**, 402-406.
382. Hedlung (P.), Lycke (E.), Tibblin (G.). — The association of acute benign pericarditis in adults with Coxsackie B5 virus infection.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 156-159.

383. Heggie (A.D.), Schultz (I.), Gutekunst (R.R.), Rosenbaum (M.), Miller (L.F.). — An outbreack of a summer febrile disease caused by Coxsackie B2 virus. *Amer. J. publ. Hlth.*, 1960, **50**, 1342-1348.
384. Hinuma (Y.). — An outbreak of aseptic meningitis associated with Coxsackie B5 and A9 viruses in Northen Japan 1961. Virological and serological studies. *J. Hyg.*, 1964, **62**, 159-170.
385. Hodes (H.L.). — Coxsackie virus infections of childhood. *In: Viral infections of infancy and childhood. Symposium n° 10 of the section of microbiology of the New-York academy of medicine.* New-York, Rose (H.M.) ed., Hoeber-Harper, 1960, p. 22-32.
386. Homann (C.). — Om en i Karagero Laegedistrikt hershende smitson Febersygdom. *Norsk Mag. Laegevidensk*, 1872, **2**, 542.
387. Hopkins (J.H.S.). — Bornholm disease. *Brit. med. J.*, 1950, **1**, 1230-1232.
388. Hosier (D.M.), Newton (W.A.). — Serious Coxsackie infection in infants and children. Myocarditis, meningoencephalitis, and hepatitis. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 251-267.
389. Howard (T.), Weymuller (C.A.), Edson (J.), Ittner (E.), Watson (J.), Cassidy (M.L.). — Epidemic pleurodynia in Brooklyn in summer of 1942. *J. Amer. med. Ass.*, 1943, **121**, 925-929.
390. Hubert (L.M.). — La maladie de Bornholm. Revue générale à propos d'une observation. Bordeaux, impr. Sammarcelli, 1952, 77p. (*Thèse Méd. Bordeaux*, 1952-1953).
391. Huebner (R.J.), Beeman (E.A.), Cole (R.M.), Beigelman (P.M.), Bell (J.A.). — The importance of Coxsackie viruses in human disease, particulary Herpangina and Epidemic pleurodynia. *New Engl. J. Med.*, 1952, **247**, 285-289.
392. Huebner (R.J.), Risser (J.A.), Bell (J.A.), Beeman (E.A.), Beigelman (P.M.), Strong (J.C.). — Epidemic pleurodynia in Texas. A study of 22 cases. *New Engl. J. Med.*, 1953, **248**, 267-274.
393. Hummeler (K.), Kirk (D.), Ostapiak (M.). — Aseptic meningitis caused by Coxsackie virus with isolation of virus from cerebrospinal fluid. *J. Amer. med. Ass.*, 1954, **156**, 676-679.
394. Huss (R.). — La myalgie épidémique en Suède. *Bull. Off. int. Hyg. publ.*, 1934, **26**, 1083-1098.
395. Jackson (A.L.). — A clinical study of the Landry-Guillain-Barre Syndrome with reference to aetiology, including the role of Coxsackie virus infections. *S. Afr. J. Lab. clin. Med.*, 1961, **7**, 121-137.
395 bis. - Jahn (C.L.), Felton (O.L.), Cherry (J.D.). — Coxsackie B1 pneumonia in an adult. *J. Amer. med. Ass.*, 1964, **3**, 236-237.
396. Jamieson (W.M.), Prinsley (D.M.). — Bornholm disease in tropics. *Brit. med. J.*, 1947, **2**, 47-50.
397. Jarcho (L.W.), Fred (H.L.), Castle (C.H.). — Encephalitis and poliomyelitis in the adult due to Coxsackie virus group B, type 5. *New Engl. J. Med.*, 1963, **268**, 235-238.
398. Javett (S.N.), Heymann (S.), Mundel (B.), Pepler (W.J.), Lurie (H.I.), Gear (J.), Measroch (V.), Kirsch (Z.). — Myocarditis in the newborn infant. A study of an outbreak associated with Coxsackie group B virus infection in a maternity home in Johannesburg. *J. Pediat.*, 1956, **48**, 1-22.
399. Johnson (R.T.), Buescher (E.L.), Rogers (N.G.), Funkenbusch (M.J.), Oliu (W.E.). — Epidemic central nervous system disease of mixed enterovirus etiology. II. Analysis of laboratory investigations. *Amer. J. Hyg.*, 1960, **71**, 331-341.
400. Johnson (R.T.), Shuey (H.E.), Buescher (E.L.). — Epidemic central nervous system disease of mixed enterovirus etiology. I. Clinical and epidemiologic description. *Amer. J. Hyg.*, 1960, **71**, 321-330.
401. Johnsson (T.). — Laboratory infections with a strain of Coxsackie virus. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1953, **5**, 250-263.

102. Johnsson (T.). — Family infections by Coxsackie viruses.
Arch. ges. Virusforsch., 1954, **5**, 384-400.
103. Johnsson (T.), Jonsson (B.), Lycke (E.), Wictorin (B.). — Studies of an epidemic of aseptic meningitis associated with Coxsackie and ECHO viruses. I. Virological observations.
Arch. ges. Virusforsch., 1957, **7**, 384-393.
104. Johnsson (T.), Lycke (E.), Wictorin (B.), Jonsson (B.). — Studies of an epidemic of aseptic meningitis associated with Coxsackie and ECHO viruses. II. Serological and clinical observations.
Arch. ges. Virusforsch., 1958, **8**, 285-295.
105. Jordan (W.S.), Stevens (D.), Katz (S.), Dingle (J.H.). — A study of illness in a group of Cleveland families. IX. Recognition of family epidemic of Poliomyelitis and Pleurodynia during a search for respiratory disease viruses.
New Engl. J. Med., 1956, **254**, 687-691.
106. Kagan (H.), Bernkopf (H.). — Pericarditis caused by Coxsackie virus B.
Ann. Paediat., 1957, **189**, 44-50.
107. Kalter (S.), Page (M.), Suggs (M.). — Study of specimens submitted for Poliomyelitis Diagnosis, january 1956-june 1957. Paper read before the American Association of Immunologists, Philadelphia, april 15, 1958. (in: Magoffin, 442).
108. Kendall (E.J.C.), Cook (G.T.), Stone (D.M.). — Acute respiratory infections in children. Isolation of Coxsackie B virus and adenovirus during the survey in a general practice.
Brit. med. J., 1960, **2**, 1180-1184.
109. Kibrick (S.), Benirschke (K.). — Acute aseptic myocarditis and meningo-encephalitis in the newborn child infected with Coxsackie virus group B, type 3.
New Engl. J. Med., 1956, **255**, 883-889.
110. Kibrick (S.), Benirschke (K.). — Severe generalized disease (encephalo-hepato-myocarditis) occurring in the newborn period and due to infection with Coxsackie virus group B. Evidence of intra-uterine infection with this agent.
Pediatrics, 1958, **22**, 857-875.
111. Kibrick (S.), Benirschke (K.). — Severe generalized disease in the newborn due to Coxsackie virus group B.
Amer. J. Dis. Child., 1958, **96**, 498.
112. Kilbourne (E.D.). — Diverse manifestations of infection with a strain of Coxsackie virus.
Fed. Proc., 1950, **9**, 582-584.
113. Lascombes (G.). — L'asystolie primitive chez l'enfant.
Nancy, Imp. Berger-Levrault, 1956, 148 p. (*Thèse Méd. Nancy*, 1956).
114. Lauret (P.). — Contribution à l'étude de l'hypertrophie cardiaque idiopathique du nourrisson.
Bordeaux, Imp. J. Bière, 1934, 75 p. (*Thèse Méd. Bordeaux*, 1934-1935).
115. Lausecker (Ch.), Surjus (A.), Fischer (D.), Hartleyb (H.), Mlle Reeb. — A propos de trois cas d'encéphalite de l'enfant à virus Coxsackie.
Arch. franç. Pédiat., 1963, **20**, 1183-1199.
116. Lavergne (E. de), Gilgenkrantz (S.), Streiff (F.), Lorrain (J.), Le Moyne (M.T.). — A propos de quelques cas de méningite lymphocytaire à virus Coxsackie B5 survenus dans une collectivité.
Ann. méd. Nancy, 1963, **11**, 1096-1103.
117. Lavillaureix (J.), Reeb (E.). — Résultats de 18 mois d'enquête sur les maladies à virus en Alsace.
Strasbourg méd., 1957, **8**, 497-503.
118. Lavillaureix (J.), Reeb (E.), Surjus (A.), Fisher (M.). — Les entérovirus en Alsace durant les années 1958-1959.
Strasbourg méd., 1960, **11**, 794-798.
119. Lazarus (A.S.), Johnston (E.A.), Galbraith (J.E.). — An outbreak of epidemic pleurodynia with special reference to the laboratory diagnosis of Coxsackie virus infections.
Amer. J. publ. Hlth., 1952, **42**, 20-26.

420. Lennette (E.H.), Magoffin (R.L.), Schmidt (N.J.), Hollister (A.C.). — Viral disease of the central nervous system: influence of poliomyelitis vaccination on etiology.
J. Amer. med. Ass., 1959, **171**, 1456-1464.
421. Lepine (P.), Thieffry (S.), Reinie (L.), Sautter (V.), Martin. — Présence en France d'infections humaines du groupe Coxsackie. Isolement du virus.
Ann. Inst. Pasteur, 1951, **80**, 200-203.
422. Lepow (M.L.), Carver (D.H.), Wright (H.T. Jr), Woods (W.A.), Robbins (F.C.). — A clinical, epidemiologic and laboratory investigation of aseptic meningitis during the four-year period 1955-1958. I. Observations concerning etiology and epidemiology.
New Engl. J. Med., 1962, **266**, 1181-1187.
423. Lepow (M.L.), Coyne (N.), Thompson (L.B.), Carver (D.H.), Robbins (F.C.). — A clinical, epidemiologic and laboratory investigation of aseptic meningitis during the four-year period 1955-1958. II. The clinical disease and its sequelae.
New Engl. J. Med., 1962, **266**, 1188-1193.
424. Lereboullet (J.). — Myalgie épidémique (maladie de Bornholm).
Paris méd., 1934, **2**, 287.
425. Lerner (A.M.), Cherry (J.D.), Klein (J.O.). — Virological studies of summer exanthems.
Arch. intern. Med., 1962, **110**, 687-692.
426. Lerner (A.M.), Finland (M.). — Coxsackie viral infections.
Arch. intern. Med., 1961, **108**, 329-334.
427. Lerner (A.M.), Klein (J.O.), Cherry (J.D.), Finland (M.). — New viral exanthems.
New Engl. J. Med., 1963, **269**, 678-685 et 736-740.
428. Lerner (A.M.), Klein (J.O.), Finland (M.). — Infection with Coxsackie virus eruption: Report of two cases.
New Engl. J. Med., 1960, **263**, 1305.
429. Leroy (C.). — Les grippes du diable (la maladie de Bornholm).
Gaz. méd. Fr., 1954, **61**, 933-937.
430. Lewes (D.), Lane (W.F.). — Acute benign pericarditis due to Coxsackie virus group B, type 3.
Lancet, 1961, **2**, 1385-1386.
431. Lindberg (G.). — Myalgia epidemica im Kindesalter.
Acta paediat. 1936, **19**, 1-49.
432. Lukacs (V.F.), Rohmhanyi (J.). — Uber eine Meningo-encephalomyocarditis epidemie bei Neugeborenen, während der epidemie von Bornholmischer Krankheit in Ungarn im Jahre 1958. I. Klinische und pathologische Befunde.
Ann. paediat., 1960, **194**, 89-102.
433. Lukes (J.). — Novorozenecka myocarditis a meningoencefalitis zpusobena virusem Coxsackie B3.
Cs. Pediat., 1959, **14**, 731-735.
434. Lutembacher (R.). — Fibroélastose de l'endocarde.
Presse méd., 1954, **62**, 1824-1826.
435. Lux (H.), Mangeney (L.), Muller (P.), Stricker (P.), Vonderweidt (P.). — Epidémies jumelées de maladies de Bornholm et d'ictère épidémique dans la région mulhousienne.
Strasbourg méd., 1954, **5**, 639-662 et 1955, **6**, 21-56.
436. Lycke (E.), Hultgardh (A.), Redin (B.). — Coxsackie B1 virus and febrile illness with rash.
Lancet, 1959, **1**, 1097.
437. Mac Lean (D.M.), Croft (C.C.), Prince (J.T.), Heckmann (E.E.). — Coxsackie and ECHO virus infections in Ohio during 1956.
Ohio St. med. J., 1957, **53**, 907-909.
438. Mac Lean (D.M.), Donohue (W.L.), Snelling (C.E.), Wyllie (J.C.). — Coxsackie B5 virus as a cause of neonatal encephalitis and myocarditis.
Canad. med. Ass. J., 1961, **85**, 1046-1048.
439. Mac Lean (D.M.), Mac Queen (E.J.), Mac Naughton (G.A.). — Infections with enteroviruses in Toronto 1961.
Canad. med. Ass. J., 1962, **86**, 359-362.

140. Mac Lean (D.M.), Walker (S.J.), Bain (H.W.). — Coxsackie B5 virus in association with pericarditis and pleurodynia.
Canad. med. Ass. J., 1958, **79**, 789-793.
141. Mac Leod (D.L.), Beale (A.J.), Mac Naughton (G.A.), Rhodes (A.J.). — Clinical features of aseptic meningitis caused by Coxsackie B virus.
Lancet, 1956, **271**, 701-703.
142. Magoffin (R.L.), Lennette (E.H.), Schmidt (N.J.). — Association of Coxsackie viruses with illnesses resembling mild paralytic poliomyelitis.
Pediatrics, 1961, **28**, 602-613.
143. Makower (H.), Skurska (Z.), Halazinska (L.). — On transplacental infection with Coxsackie virus.
Tex. Rep. Biol. Med., 1958, **16**, 346-354.
144. Marchessault (V.), Pavilanis (V.), Podoski (M.O.), Clode (M.). — An epidemic of aseptic meningitis caused by Coxsackie B type 2 virus.
Canad. med. Ass. J., 1961, **85**, 123-126.
145. Martin (R.), Sureau (B.). — Un cas parisien de maladie de Bornholm chez un nourrisson.
Arch. franç. Pédiat., 1952, **9**, 1049-1050.
146. Martineau (B.), Lafontaine (R.). — Infections à entérovirus (poliomyélite, Coxsackie, ECHO) à l'Hôpital Sainte-Justine en 1959.
Un. méd. Can., 1961, **90**, 1204-1215.
147. Maryssael (L.). — La maladie de Bornholm.
Concours méd., 1952, **74**, 453-459, 1063-1068 et 2501-2502.
148. Maryssael (L.). — La maladie de Bornholm.
Concours méd., 1953, **75**, 465-466.
149. Menut (G.). — A propos de cinq cas d'affections neurologiques graves chez l'enfant, dont un syndrome de Guillain-Barré. Mise en évidence du virus Coxsackie.
Arch. franç. Pédiat., 1952, **9**, 978-983.
150. Meyer (H.M.), Johnson (R.T.), Crawford (I.P.), Dascomb (H.E.), Rogers (N.G.) — Central nervous system syndromes of « viral » etiology. A study of 713 cases.
Amer. J. Med., 1960, **29**, 334-347.
151. Mollaret (P.). — Le démembrement de la poliomyélite: les maladies poliomyélitiques humaines frontières.
Presse méd., 1950, **58**, 1223-1225.
152. Montgomery (J.), Gear (J.), Prinsloo (F.R.), Kahn (M.), Kirsch (G.C.). — Myocarditis of the newborn; an outbreak in a maternity home in Southern Rhodesia, associated with Coxsackie group B virus infection.
S. Afr. med. J., 1955, **29**, 608-612.
153. Moossy (J.), Geer (J.C.). — Encephalomyelitis, myocarditis and adrenal cortical necrosis in Coxsackie B3 virus infection. Distribution of the central nervous system lesions.
Arch. Path., 1960, **70**, 614-622.
154. Morrisson (R.J.G.), Baird (J.P.). — Orchitis in Bornholm disease.
Brit. med. J., 1952, **1**, 198-199.
155. Movitt (E.R.), Lennette (E.H.), Mangum (J.F.), Berk (M.), Bowman (M.S.). — Acute benign pericarditis. Report of two cases associated with Group A and Group B Coxsackie viruses.
New Engl. J. Med., 1958, **258**, 1082-1086.
155 bis. Nakao (T.), Nitta (T.), Miura (R.). — Clinical and epidemiological studies on an outbreak of aseptic meningitis caused by Coxsackie B5 and A9 viruses in Aomori in 1961.
Tohoku J. exp. Med., 1964 **83**, 94-102.
156. Newton (W.A.), Hosier (D.M.). — Coxsackie infection in infants and children: focal and disseminated, fatal and non fatal.
Amer. J. Path., 1958, **34**, 587-588.
157. Null (F.C.), Castle (C.H.). — Adult pericarditis and myocarditis due to Coxsackie virus group B, type 5.
New Engl. J. Med., 1959, **261**, 937-942.

458. O'Shaughnessey (W.J.), Buechner (H.A.). — Hepatitis associated with a Coxsackie B5 virus infection during late pregnancy.
J. Amer. med. Assoc., 1962, **179**, 71-72.
459. Parodi (A.S.). — Aislamiento del agente causal de un sindrome de encefalopapilitis.
Rev. Soc. argent. Biol., 1954, **30**, 53-57.
460. Patz (I.M.), Measroch (V.), Gear (J.). — Bornholm disease, pleurodynia or epidemic myalgia outbreak in the Transvaal associated with Coxsackie virus infection.
S. Afr. med. J., 1953, **27**, 397-402.
461. Payne (G.C.), Armstrong (C.). — Epidemic transient diaphragmatic spasm: disease of unknow etiology, epidemic in Virginia.
J. Amer. med Ass., 1923, **81**, 746-748.
462. Peltier (L.), Vialard (J.C.), Aubertin (E.). — Sur un cas de la maladie de Bornholm.
J. Méd. Bordeaux, 1953, **130**, 465-470.
463. Pette (H.), Vallnciano (L.). — Experimental investigations as to the neuropathogenicity of Enteroviruses.
In: Association européenne contre la poliomyélite. VIIe symposium, Oxford, 17-20 *sept.*, 1961. Masson éd., Paris, 1962, vol. 7, p. 173-185.
464. Plager (H.), Beebe (R.), Miller (J.K.). — Coxsackie B5 pericarditis in pregnancy.
Arch. intern. Med., 1962, **110**, 735-738.
465. Plichet (A.). — La maladie de Bornholm et les virus de Coxsackie.
Presse méd., 1950, **48**, 857-858.
466. Prades (G.). — Les infections à virus de Coxsackie. Etude critique des méthodes de diagnostic.
Lyon, Imp. Générale Lyonnaise, 1955, 79 p. (*Thèse Méd., Lyon*, 1955).
467. Rapmund (G.), Gauld (J.R.), Rogers (N.G.), Holmes (G.E.). — Neonatal myocarditis and meningoencephalitis due to Coxsackie virus group B, type 4. Virologic study of a fatal case with simultaneous aseptic meningitis in the mother.
New Engl. J. Med., 1959, **260**, 819-821.
468. Rentsch (M.). — Les infections à virus Coxsackie de l'enfant.
Rev. méd. Suisse rom., 1961, **81**, 433-453.
469. Rhodes (A.J.), Beale (A.J.). — Aseptic meningitis, evidence for the etiologic role of Coxsackie B and « orphan viruses ».
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 212-222.
470. Riggs (S.), Sanford (J.P.). — Viral orchitis.
New Engl. J. Med., 1962, **266**, 990-993.
471. Roberts (R.), Lydon (M.), Mc Intosh (M.). — Coxsackie Pericarditis.
Canad. med. Ass. J., 1959, **80**, 722-725.
472. Rohmer (P.), Sacrez (R.), Fruhling (L.). — Endomyocardite fibreuse du nourrisson.
Arch. franç. Pédiat., 1950, **7**, 645-651.
473. Ronse (L.). — La myalgie épidémique.
Brux. méd., 1949, **29**, 3411-3422.
474. Ronse (L.). — Virus de Coxsackie. Myalgie épidémique ou maladie de Bornholm et névralgie intercostale.
Presse méd., 1951, **59**, 996-999.
475. Rosen (L.), Bell (J.A.), Huebner (R.J.). — Enterovirus infection of children in a Washington, D.C., Welfare Institution.
In: Viral infections of infancy and childhood, Symposium n° 10 of the section of microbiology of the New-York academy of medicine.
New-York, Rose (H.M.) ed., Hoeber-Harper, 1960, pp. 119-127.
176. Rossi (E.). — Les myocardites à Coxsackie.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 151-152.
477. Rubin (H.), Lehan (P.H.), Doto (I.L.), Chin (T.D.Y.), Heeren (R.H.), Johnson (O.), Wenner (H.A.), Furcolow (M.L.). — Epidemic infection with Coxsackie virus group B, type 5. Clinical and epidemiologic aspects.
New Engl. J. Med., 1958, **258**, 255-263.

178. Rudder (B. de). — Myalgia acuta epidemica (Bornholmer Krankheit) und epidemische Poliomyelitis (Gemeinsame Züge ihrer Klinik und Epidemiologie). *Klin. Wchnschr.*, 1937, **16**, 585-586.
179. Russi (F.), Mazzi (F.), Bellochi (C.). — Coxsackiosi enteritogena epidemica a Poggio St-Marcello di Ancona nell' state 1959. *Minerva med.*, 1961, **52**, 3515-3522.
180. Ryder (D.E.), Doane (F.W.), Zbitnew (A.), Rhodes (A.J.). — Report of an outbreak of Bornholm disease with isolation of Coxsackie B5 virus: Toronto 1958. *Canad. J. publ. Hlth.*, 1959, **50**, 265-269.
181. Sacrez (R.), Fruhling (L.), Adam (Ch.). — Etude des cas de myoendocardite chronique fibro-élastique (fibro-élastose de l'endocarde) observés à la clinique infantile de Strasbourg de janvier 1947 à janvier 1954. *Pédiatrie*, 1955, **10**, 129-143.
182. Sacrez (R.), Levy (J.M.), Bernardy (L.), Lavillaureix (J.). — Infections à virus Coxsackie chez l'enfant. Etude clinique, épidémiologique et virologique d'une épidémie de méningites lymphocytaires bénignes. *Arch. franç. Pédiat.*, 1958, **15**, 60-74.
183. Saint-Geme (J.W.), Prince (J.T.). — Vesicular pharyngitis associated with Coxsackie virus group B, type 5. *New Engl. J. Med.*, 1961, **265**, 1255-1256.
184. De Sanctis Monaldi (T.), Benedetto (A.), Montalto (T.T.). — Pericarditis infection due to Coxsackie virus group B, type 2. *Brit. med. J.*, 1963, **4**, 1451-1452.
185. Saphir (O.). — Myocarditis; a general review with an analysis of 240 cases. *Arch. Path.*, 1941, **32**, 1000-1051 et 1942, **33**, 88-137.
186. Saphir (O.), Wile (S.A.), Reingold (I.M.). — Myocarditis in children. *Amer. J. Dis. Child.*, 1944, **67**, 294-312.
187. Saslaw (S.), Wooley (C.F.), Anderson (G.R.). — Aseptic meningitis syndrome: report of eleven cases wiith cerebrospinal fluid isolation of enteroviruses. *Arch. intern. Med.*, 1960, **105**, 69-75.
188. Scadding (J.G.). — Acute benign dry pleurisy in the Middle East. *Lancet*, 1946, **1**, 763-766.
189. Schaefer (R.), Rohrs (K.), Vivell (O.). — Enzephalo-myokarditis. Syndrom beim Neugeborenen infolge Infektion mit Coxsackie virus vom type B4. *Münch. med. Wschr.*, 1959, **101**, 740-744.
190. Schelling (J.L.). — Les infections à virus Coxsackie de l'adulte. *Rev. méd. Suisse rom.*, 1961, **81**, 454-457.
191. Shaw (E.W.), Melnick (J.L.), Curnen (E.C.). — Infection of laboratory workers with Coxsackie viruses. *Ann. Intern. Med.*, 1950, **33**, 32-41.
192. Shelokov (A.), Habel (K.). — Viremia in Coxsackie B meningitis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1957, **94**, 782-784.
193. Siegel (W.), Spencer (F.J.), Smith (D.J.), Toman (J.M.), Skinner (W.F.), Marx (M.B.). — Two new variants of infection with Coxsackie virus group B, type 5, in young children. A syndrome of Lymphadenopathy, Pharyngitis and Hepatomegaly or Splenomegaly, or both, and one of pneumonia. *New Engl. J. Med.*, 1963, **268**, 1210-1216.
194. Simenhoff (M.L.), Vys (C.J.). — Coxsackie virus myocarditis of the newborn. A pathological survey of 4 cases. *Med. Proc.*, 1958, **4**, 389-397.
195. Sode (J.), Baker (W.J.). — Acute benign pericarditis and pneumonitis associated with Coxsackie virus B, type 2 infection in a young man. *Arch. intern. Med.*, 1959, **104**, 313-317.
196. Somma-moreira (R.S.), Tosi (H.C.), Rodriguez Martinez (R.J.). — Aislamiento del virus Coxsackie (groupo B) en dos pacientes con sindrome de Guillain-Barré. *Arch. Pediat. Urug.*, 1963, **34**, 82-88.
197. Sommerville (R.G.). — Enteroviruses and diarrhea in young persons. *Lancet*, 1958, **2**, 1347-1349.

498. Stanley (N.F.), Dorman (D.C.), Ponsford (J.). — A hitherto undescribed group of Coxsackie viruses associated with an outbreak of encephalitis.
Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 1953, **31**, 31-40.
499. Steigman (A.J.). — Clinical paralytic poliomyelitis due to enteroviruses other than poliovirus.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 169-172.
500. Steigman (A.J.), Lipton (M.M.). — Active antibody production by the newborn with Coxsackie B3 viremia and encephalitis.
Amer. J. Dis. Child., 1960, **100**, 537.
501. Steigman (A.J.), Lipton (M.M.). — The immune status of mothers and their newborns to the Coxsackie B group of viruses.
Amer. J. Dis. Child., 1961, **102**, 498-499.
502. Stern (H.). — Aetiology of central nervous system infections during prevalence of poliovirus and Coxsackie virus. Some clinical manifestations of Coxsackie virus infections.
Brit. med. J., 1961, **2**, 1061-1066.
503. Stoeber (E.). — Weitere Untersuchungen über epidemische Myocarditis (Schwielenherz) des Saüglings.
Z. Kinderheilk., 1952, **71**, 319-356 und 592-623.
504. Suckling (P.V.), Vogelpoel (L.). — Coxsackie myocarditis of the newborn.
Med. Proc., 1958, **4**, 372-389.
505. Surjus (A.). — Les maladies à virus Coxsackie. Etude générale.
Path. et Biol., 1962, **10**, 1587-1598.
506. Surjus (A.), Lausecker (C.), Reeb (E.), Lavillaureix (J.). — Les maladies à virus Coxsackie en Alsace. Epidémiologie et gravité au cours des années 1956 à 1961.
Path. et Biol. 1963, **11**, 149-161.
507. Sussman (M.L.), Strauss (L.), Hodes (H.L.). — Fatal Coxsackie group B virus infection in the newborn. Report of a case with necropsy findings and brief review of the literature.
Amer. J. Dis. Child., 1959, **97**, 483-492.
508. Swain (R.H.A.), Mitchell (R.G.). — The isolation of a Coxsackie virus from two cases of Bornholm disease.
Brit. med. J., 1953, **1**, 1354-1356.
509. Swann (N.H.). — Epidemic pleurodynia, orchitis and myocarditis in an adult due to Coxsackie virus, group B, type 4.
Ann. intern. Med., 1961, **54**, 1008-1013.
510. Sylvest (E.). — La maladie de Bornholm (Myositis acuta epidemica).
Bull. Off. Int. Hyg. publ., 1932, **24**, 1431-1439.
511. Sylvest (E.). — *Den Bornholmske Syge, Myalgia Epidemica*, Levin et Munksgaards Forlag, Copenhague, 1933. Traduction anglaise: Epidemic myalgia. Bornholm Disease. Humphrey Milford, Oxford University Press, London, 1934.
512. Syverton (J.T.), Mac Lean (D.M.), Martins Da Silva (M.), Doany (H.B.), Cooney (M.), Kleiman (H.). — Outbreak of aseptic meningitis caused by Coxsackie B5 virus; laboratory, clinical and epidemiologic study.
J. Amer. med. Ass., 1957, **164**, 2015-2019.
513. Tenenbaum (J.). — Les méningites à virus Coxsackie. Etude clinique, épidémiologique et virologique.
Guénange, Impr. des Orphelins Apprentis, 1958, 100 p.
(*Thèse Méd., Strasbourg*, 1958).
514. Thelin (F.), Wirth (J.). — La myalgie épidémique (maladie de Bornholm) Isolement d'un virus au cours d'une épidémie récente.
Rev. méd. Suisse rom., 1951, **71**, 44-51.
515. Thieffry (S.). — Entérovirus (Poliomyélite, Coxsackie, ECHO) et maladies du système nerveux. Révision critique et expérience personnelle.
In: Les Encéphalites à virus. Rapports présentés à la XXVIe réunion neurologique internationale, Paris, 11-12 juin 1963. Masson éd., Paris, 1963, p. 169-192

516. Thieffry (S.). Arthuis (M.), Martin (Ch.), Celers (J.), Drouet (V.), Boue (A.). — Etude clinique, virologique et sérologique systématique de 473 cas d'affections du système nerveux par les entérovirus (Poliomyélite, Coxsackie, ECHO). *In: Association européenne contre la Poliomyélite. VIIe Symposium, Oxford*, 17-20 *sept.*, 1961. Masson éd., Paris, 1962, vol. 7, p. 185-210.
517. Thomas (H.M.). — Acute viral peritonitis due to Group B Coxsackie viruses. *Maryland med. J.*, 1962, **11**, 282-285.
518. Truckenbrodt (H.). — Klinische und epidemiologische Beobachtungen bei Bornholmer Krankheit. Beitrag zur differential diagnose der Appendicitis acuta. *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, **86**, 2055-2060.
519. Ulstrup (J.C.), Kass (E.). — Acute pericarditis associated with Coxsackie B5 virus infections. *Acta med. scand.*, 1962, **172**, 297-300.
520. Utz (J.P.), Shelokov (A.I.). — Coxsackie B virus infection: Presence of virus in blood, urine and cerebrospinal fluid. *J. Amer. med. Ass.*, 1958, **168**, 264-267.
521. Van Bogaert (L.), Bogaert (R.). — Sur la myalgie épidémique en Belgique. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.*, 1942, **7**, 706-726.
522. Van Creveld (S.). — La maladie de Bornholm. *Arch. franç. Pédiat.*, 1952, *9*, 689-697.
523. Van Creveld (S.). — Virus myocarditis in Infancy: acute phase and possible late sequels. *In: Viral infections of infancy and childhood, Symposium n°* 10 *of the section of microbiology of the New-York academy of medicine.* New-York, Rose (H.M.) ed., Hoeber-Harper, 1960, pp. 33-54.
524. Van Creveld (S.), Jager (H. de). — Myocarditis in newborns, caused by Coxsackie virus clinical and pathological data. *Ann. paediat. (Basel)*, 1956, **187**, 100-112.
525 Vanek (J.), Lukes (J.), Potuznik (V.), Polednikova (I.), Vilim (N.). — Myocarditis and encephalitis in newborn infants caused by Coxsackie B virus. *J. Hyg. Epidem. (Praha)*, 1959, **3**, 283-291.
526. Varcasia (E.), Castelli (L.). — Su di un caso di miocardite da Coxsackie B5. *R.C. Ist. sup. Sanita*, 1957, **20**, 831-841.
527. Vargosko (A.J.). — L'association du virus Coxsackie B5 aux affections respiratoires mineures chez l'enfant. Sessions spéciales Maladies infectieuses et immunologiques. *Amer. J. Dis. Child.*, 1962, **104**, 539.
528. Verlinde (J.D.), Van Tongeren (H.A.E.). — A mixed epidemic of poliomyelitis and Bornholm's disease (pleurodynia). *Antonie v. Leeuwenhoek.*, 1952, **18**, 239-245.
529. Verlinde (J.D.), Van Tongeren (H.A.E.), Kret (A.). — Myocarditis in newborns due to group B Coxsackie virus. Virus studies. *Ann. paediat.*, 1956, **187**, 113-118.
530. Walker (S.H.), Togo (Y.). — Encephalitis due to group B, type 5 Coxsackie virus. *Amer. J. Dis. Child.*, 1963, **105**, 209-212.
531. Walker (S.J.), Mac Naughton (G.A.), Mac Lean (D.M.). — Coxsackie B5 virus infection in children, Toronto 1958. *Canad. J. publ. Hlth.*, 1959, **50**, 461-467.
532. Walters (J.H.). — Postencephalitic Parkinson syndrome after meningoencephalitis due to Coxsackie virus group B, type 2. *New Engl. J. Med.*, 1960, **263**, 744-746.
533. Warin (J.F.). — Bornholm disease. *Brit. J. clin. Pract.*, 1956, **10**, 27-30.
534. Warin (J.F.), Davies (J.B.M.), Sanders (F.K.), Vizoso (A.D.). — Oxford epidemic of Bornholm disease, 1951. *Brit. med. J.*, 1953, **1**, 1345-1351.
535. Webb (C.H.), Wolff (S.G.). — "Three day fever"; an acute febrile disease of childhood. *Amer. J. Dis. Child.*, 1950, **80**, 245-253.

536. Weinberg (T.), Himelfarb (A.J.). — Endocardial fibroelastosis. Report of two cases occurring in siblings.
Bull. Johns Hopk. Hosp., 1943, **72**, 299-306.

537. Weinstein (S.B.). — Acute benign pericarditis associated with Coxsackie virus group B, type 5.
New Engl. J. Med., 1957, **257**, 265-267.

538. Welte (P.E.F.). — La maladie de Bornholm. Etude clinique et étiologique.
Paris, impr. D.P. Taib, 1952, 70 p. (*Thèse Méd. Paris*, 1952).

539. Wilkins (A.J.), Kotze (D.M.), Melvin (J.), Gear (J.), Prinsloo (F.R.), Kirsch (Z.). — Meningo-encephalitis due to Coxsackie B virus in Southern Rhodesia.
S. Afr. med. J., 1955, **29**, 25-28.

540. Windorfer (A.). — Die Coxsackie-virus Infektionen im Kindesalter.
Med. Klin., 1963, **58**, 1-5.

541. Windorfer (A.), Born (M.). — Uber die meningitische Form der Bornholmer Krankheit « Meningitis myalgica ».
Dtsch. med. Wschr., 1952, **77**, 1012-1015.

542. Windorfer (A.), Schricker (H.). — Uber typische und rudimentare Verlaufsformen der Bornholmer Krankheit (dargestellt an einer Heimepidemie).
Med. Klin., 1954, **49**, 1069-1072.

543. Windorfer (A.), Schricker (H.). — Sur une épidémie de maladie de Bornholm dans un home.
Méd. et Hyg. (Genève), 1959, **17**, 348-349.

544. Wisner (B.), Buimovici (E.), Guigarin (M.), Sloboda (E.). — Bacteriological and virological studies on 240 cases of summer gastroenteritis in children.
In the IIIe international congress for infectious pathology, Bucarest, 8-11 oct. 1962, p. 20-21. ou *Arch. roum. Path. exp. (Bucarest)*, 1963, **22**, 241-252.

545. Wissle (R.H.), Wiesman (E.). — Die Zürcher « Sommergrippe » 1958. Isolierung von Coxsackie virus B1.
Schweiz. med. Wschr., 1959, **89**, 608-610.

546. Wooley (C.F.). — Intracranial hypertension associated with recovery of a Coxsackie virus from the cerebrospinal fluid.
Neurology, 1960, **10**, 572-574.

547. Yaffee (H.S.). — Erythema multiforme caused by Coxsackie B5. A possible association with epidemic pustular stomatitis of children.
Arch. Derm., 1960, **82**, 737-739.

548. Yokota (T.). — Type distribution of Coxsackie viruses in Japan.
Brit. med. J., 1957, **1**, 702.

EPIDEMIOLOGIE - DIAGNOSTIC

549. Albano (A.). — On some simple methods for concentration of virus.
Zbl. Bakt., 1961, **181**, 451-455.

550. Artenstein (M.S.), Weinstein (L.). — Hospital — acquired enterovirus infections.
New. Engl. J. Med., 1962, **267**, 1005-1010.

551. Balajan (M.S.), Belyaeva (A.P.), Seibil (V.B.). — Use of the precipitin test in the diagnosis of infections caused by ECHO and Coxsackie viruses.
Acta virol., 1963, **7**, 241-249.

552. Bell (J.A.), Huebner (R.J.), Rosen (L.), Rowe (W.P.), Cole (R.M.), Mastrota (F.M.), Floyd (T.M.), Chanock (R.M.), Shvedoff (R.A.). — Illness and microbial experiencies of nursery children at junior village.
Amer. J. Hyg., 1961, **74**, 265-292.

553. Blattner (R.J.). — Enteric viruses.
J. Pediat., 1956, **48**, 682-684.

554. Bloom (H.H.), Mack (W.N.), Krueger (B.J.), Malimann (W.L.). — Identification of enteroviruses in sewage.
J. infect. Dis., 1959, **105**, 61-68.

555. Brown (G.C.). — Fluorescent antibody techniques for the diagnosis of enteric infections.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 30-34.
556. Carcassi (U.). — La ricerca degli anticorpi neutralizzanti e fissanti il complemento a scopo diagnostico. Definizione delle procedure piu idonce praticamente applicabili.
G. Mal. infett., 1960, **12**, 49-53.
557. Castelli (L.), Balducci (D.), Mancini (G.). — Anticorpi anti virus Coxsackie in saggitti normali e con sindromi a sospetta eziologia virale. Fissazioni del complemento eseguite con 24 antigeni.
R.C. Ist. sup. Sanita, 1957, **20**, 1069-1078.
558. Chaix (M.C.). — Les examens biologiques au cours des infections à entérovirus. Leurs intérêts diagnostic et épidémiologique.
Lyon, Imp. Chrétien-Paviol, 1963, 83 p. (*Thèse Méd., Lyon*, 1963).
559. Chang (S.L.), Stevenson (R.E.), Bryant (A.R.), Woodward (R.L.), Kabler (P.W.) — Removal of Coxsackie and bacterial viruses in water by floculation. II. Removal of Coxsackie and bacterial viruses and the native bacteria in raw Ohio River water by floculation with aluminium sulfate and ferric chloride.
Amer. J. publ. Hlth., 1958, **48**, 51-61 et 159-169.
560. Chassagne (P.), Bricout (F.). — Epidémiologie générale des maladies à virus entériques et respiratoires: étude clinique.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 3-15.
561. Chin (T.D.), Marine (W.N.), Hall (E.C.), Gravelle (C.R.), Speers (J.F.). — Poliomyelitis in Des Moines, Iowa, 1950. The influence of Salk vaccination on the epidemic pattern and the spread of the virus in the community.
Amer. J. Hyg., 1961, **74**, 67-94.
562. Clark (E.M.), Knowles (D.S.), Shimada (F.T.), Rhodes (A.J.), Ritchie (R.C.), Donohue (W.L.). — Coxsackie viruses in urban sewage. Recovery of virus in season of low incidence of reported poliomyelitis.
Canad. J. publ. Hlth., 1951, **42**, 103-107.
563. Clarke (M.), Hunter (M.), Mc Naughton (S.A.), Seydlitz (D. von), Rhodes (A.J.). — Seasonal aseptic meningitis caused by Coxsackie and ECHO viruses Toronto 1957.
Canad. med. Ass. J., 1959, **81**, 5-8.
564. Cook (G.T.), Smith (A.J.). — Serum neutralizing antibodies to Coxsackie B viruses.
Mth. Bull. Minist. Hlth., 1960, **19**, 165-169.
565. Cook (G.T.), Smith (A.J.). — Enterovirus excreters in residential nurseries.
Mth. Bull. Minist. Hlth. Lab. Serv., 1962, **21**, 47-53.
566. Coons (A.H.), Kaplan (M.H.). — Localization of antigen in tissue cells. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody.
J. exp. Med., 1950, **91**, 1-13.
567. Dalldorf (G.), Albrecht (R.). — Chronologic association of poliomyelitis and Coxsackie virus infections.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 1955, **41**, 978-982.
567 bis. - Dalldorf (G.), Weigand (H.). — Poliomyelitis as a complex infection.
J. exp. Med., 1958, **108**, 605-616.
568. Dardanoni (L.). — Il fenomeno di interferenza nelle infezioni da virus enterici.
Riv. Ist. sieroter. ital., 1962, **37**, 413-427.
569. Davis (D.C.), Melnick (S.L.), New Haven (P.D.), Conn. — Poliomyelitis and aseptic meningitis. A two year field and laboratory study in Connecticut.
J. Lab. clin. Med., 1958, **51**, 97-117.
570. Delpy (S.). — Préparation d'un antigène purifié (protamine - éther) pour la sérologie des affections du groupe Coxsackie.
Ann. Inst. Pasteur, 1953, **84**, 780-782.
571. Domok (I.). — Studies on the interaction between Coxsackie and poliomyelitis viruses. I. Simultaneous infection with B1 Coxsackie and Lansing poliomyelitis viruses in mice of different ages.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 1957, **4**, 183-195.

572. Domok (I.). — Studies on the interaction between Coxsackie and poliomyelitis viruses. II. Late resistance to poliomyelitis of young mice previously infected with Coxsackie B1 virus.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 1958, **5**, 111-122.
573. Domok (I.). — Studies on the interaction between Coxsackie and poliomyelitis viruses. III. The course of resistance to poliomyelitis virus induced by Coxsackie B1 virus in young mice.
Acta virol., 1959, **3**, 222-233.
574. Domok (I.). — Studies on the interaction between Coxsackie and poliomyelitis virus. IV. Further experiments concerning the antagonism between Coxsackie B1 virus and the Lansing strain of poliomyelitis virus in young mice.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 1960, **7**, 87-93.
575. Domok (I.), Molnar (E.). — Enterovirus studies in connection with the 1959 poliomyelitis epidemic in Hungary.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 1961, **8**, 189-203.
576. Domok (I.), Molnar (E.), Jancso (E.), Daniel (M.). — Enterovirus survey in children after mass vaccination with live attenuated polioviruses.
Brit. med. J., 1962, **1**, 743-746.
577. Domok (I.), Molnar (E.), Rudnai (O.). — An epidemic of Bornholm disease in Hungary in 1958.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 1960, **7**, 151-168.
578. Downey (T.W.). — Polioviruses and flies: studies on the epidemiology of enteroviruses in an urban area.
Yale J. Biol. Med., 1963, **35**, 341-352.
579. Drouhet (V.). — Sur le diagnostic virologique et sérologique des infections à entérovirus.
Path. et Biol., 1960, **8**, 17-28.
580. Enjalbert (L.), Lapchine (L.), Lareng (M.B.), Didier (J.). — Les souches d'Entérovirus isolées à Toulouse. Années 1958-1959.
Path. et Biol., 1961, 9, 1545-1549.
581. Felici (A.). — Epidemiologia delle malattie da virus Coxsackie in Italia.
G. Mal. infett. 1960, **12**, 88-91.
582. Fischer (R.G.), Syverton (J.T.). — The cockroach as an experimental vector of Coxsackie virus.
Amer. J. trop. Med., 1951, **31**, 238-242.
583. Fischer (R.G.), Syverton (J.T.). — The distribution of Coxsackie virus in experimentally infected cockroaches, « Periplaneta americana ».
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1957, **95**, 284-287.
584. Francis (T Jr.), Brown (G.C.), Ainslie (J.D.). — Poliomyelitis in Hildago Country Texas, 1948. Poliomyelitis and Coxsackie viruses in privy specimens.
Amer. J. Hyg., 1953, **58**, 310-318.
585. Gamble (D.R.). — Isolation of Coxsackie viruses from normal children aged 0-5 years.
Brit. med. J., 1962, **1**, 16-18.
586. Gelfand (H.M.). — The incidence of certain endemic enteric virus infections in Southern Louisiana.
Sth. med. J., 1959, **52**, 819-827.
587. Gelfand (H.M.). — The occurrence in Nature of the Coxsackie and ECHO viruses.
Progr. med. Virol., 1961, **3**, p. 193-244.
588. Gelfand (H.M.), Leblanc (D.R.), Fox (J.P.), Conwell (D.P.). — Studies on the development of natural immunity to poliomyelitis in Louisiana. II. Description and analysis of episodes in infection observed in study group households.
Amer. J. Hyg., 1957, **65**, 367-385.
589. Gelfand (H.M.), Leblanc (D.R.), Potash (L.), Clemmer (D.I.), Fox (J.P.). — The spread of living attenuated strains of polioviruses in two communities in southern Louisiana.
Amer. J. publ. Hlth., 1960, **50**, 767-778.
590. Gelfand (H.M.), Potash (L.), Leblanc (D.R.), Fox (J.P.). — Intrafamilial and interfamilial spread of living vaccine strains of polioviruses.
J. Amer. med. Ass., 1959, **170**, 2039-2048.

591. Gevaudan (P.), Charrel (J.), Laurent (J.), Sautet (J.). — Essais sur l'Ornithodorus erraticus en tant que vecteur expérimental du virus Coxsackie.
Arch. Inst. Pasteur Maroc, 1962, **6**, 318-324.
592. Gnesh (G.M.), Plager (H.), Decher (W.). — Enterovirus typing by complement-fixation.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1964, **115**, 899-900.
593. Halpern (S.), Sulkin (S.E.). — Mixed viral infections: interactions between Coxsackie virus and poliovirus in mice and tissue cultures.
Tex. Rep. Biol. Med., 1961, **19**, 585-612.
594. Hambling (M.H.), Davis (P.M.), Macrae (A.D.). — The typing of enteroviruses in tissue culture by neutralization with composite antiserum pools.
J. Hyg. (Lond.), 1963, **61**, 479-484.
595. Hamparian (V.V.), Muller (F.), Hummeler (K.). — Elimination of nonspecific components from viral antigens by fluorocarbon.
J. Immunol., 1958, **80**, 468-475.
596. Hatch (M.H.). — Identification of Coxsackie and ECHO virus isolates with fluorescent antibody.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, **114**, 161-165.
597. Hemmes (J.H.), Winkler (K.C.), Kool (S.M.). — Virus survival as a seasonal factor in influenza and poliomyelitis.
Nature (Lond.), 1960, **188**, 430-431.
598. Henigst (W.). — Orientierende Untersuchungen über das Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern gegen Coxsackieviren in der gesunden Bevölkerung.
Z. Hyg. Infekt.-Kr., 1962, **148**, 307-317.
599. Hinuma (Y.), Miyamoto (T), Murai (Y.), Ishida (N.). — Detection of Coxsackie virus antigen in urinary cells by immunofluorescence.
Lancet, 1962, **2**, 179-180.
600. Ho (M.), Enders (J.F.). — Further studies of an inhibitor of viral activity appearing in infected cell cultures and its role in chronic viral infections.
Virology, 1959, **9**, 446-477.
601. Honig (E.I.), Melnick (J.L.), Isacson (P.), Parr (R.), Myers (I.L.), Walton (M.). — An epidemiological study of enteric virus infections Poliomyelitis, Coxsackie and Orphan (ECHO) viruses isolated from normal children in two socio-economic groups.
J. exp. Med., 1956, **103**, 247-262.
602. Horstmann (D.M.), Kraft (L.M.). — Poliomyelitis and other antibody patterns in natives of Tahiti and Raiatea.
J. Immunol., 1955, **75**, 249-258.
603. Howitt (B.F.). — Recovery of the Coxsackie group of viruses from human sources.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **73**, 443-448.
604. Howitt (B.F.), Benefield (U.R.). — Use of complement fixation in differentiation of strain of Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **73**, 90-92.
605. Hsiung (G.D.). — Applications of primary cell cultures in the study of animal viruses. III. Biological and genetic studies of enteric viruses of man.
Yale. J. Biol. Med., 1961, **33**, 359-371.
606. Hsiung (G.D.). — Further studies on characterization and grouping of ECHO viruses.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1962, **101**, 413-422.
607. Hurlbut (H.S.). — The experimental transmission of a Coxsackie — like virus by mosquitoes.
J. Egypt. med. Ass., 1953, **36**, 495-498.
608. Ingram (V.G.), Lepow (M.L.), Warren (R.J.), Robbins (F.C.). — Behavior of Sabin type I attenuated poliovirus in an infant population infected with ECHO 14 virus.
Pediatrics, 1962, **29**, 174-180.
609. Johnsson (T.). — Studies on the etiology of Bornholm disease. Epidemic pleurodynia. II. Epidemiological observations.
Arch. ges. Virusforsch., 1954, **5**, 401-412.

610. Johnsson (T.). — Simultaneous recovery of two or more immunological types of Coxsackie virus from the same patient.
Arch. ges. Virusforsch., 1955, **6**, 242-249.
610. bis. - Johnsson (T.). — Occurrence of Coxsackie virus infections in an epidemic of poliomyelitis.
Acta path. microbiol. scand., 1956, suppl. 3, 187.
611. Jungeblut (C.W.), Kodza (H.). — Interference between certain neurotropic viruses in tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **101**, 270-275.
612. Kappel (M.). — Isolierungen von Coxsackie — Viren aus Untersuchungsmaterial.
Z. Immun. - Forsch., 1962, **123**, 252-258.
613. Klein (M.). — The significance of human antiviral neutralizing substances in animal sera.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1958, **70**, 362-368.
614. Lapinleimu (K.), Penttinen (K.). — Virus Isolations from sewage in Finland in 1960-1961.
Arch. ges. Virusforsch., 1963, **13**, 72-75.
615. Lavillaureix (J.), Reeb (E.). — Recherche et identification de virus dans 250 cas de méningites non bactériennes à liquide clair.
Sem. Hôp. Paris, 1957, **5**, 1411-1415.
616. Ledinko (N.), Melnick (J.L.). — Interference between poliomyelitis viruses in tissue culture.
J. exp. Med., 1954, **100**, 247-267.
617. Lepine (P.), Sautter (V.), Delpy (J.), Artzet (F.). — Technique de la déviation du complément sur plaques dans les maladies à virus. Application aux virus du groupe Coxsackie.
Ann. Inst. Pasteur, 1953, **84**, 684-694.
618. Lepine (P.), Sohier (R.). — *Techniques de laboratoire appliquées au diagnostic des maladies à virus.*
Paris, Masson, 1954, 479 p.
619. Levaditi (C.), Henry-Eveno (J.). — Antagonisme entre le virus de l'encéphalomyélite Est et celui de la maladie de Bornholm.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1952, **146**, 892-894.
620. Levaditi (C.), Henry-Eveno (J.). — Symbiose entre le virus Coxsackie souche B neurotrope et celui du looping ill.
Ann. Inst. Pasteur, 1953, **84**, 778-780.
621. Levaditi (C.), Henry-Eveno (J.). — Le virus de Coxsackie B (type encéphalitogène) et le « Borrelia duttoni » sont-ils susceptibles de créer un état de symbiose ?
Bull. Acad. Sci., 1953, **236**, 339.
622. Levaditi (C.), Henry-Eveno (J.), Vaisman (A.). — Y a-t-il possibilité de symbiose entre le virus Coxsackie et celui du vaccin Jennerien neurotrope ?
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1951, **232**, 1614-1616.
623. Levaditi (C.), Vaisman (A.). — Relations entre les virus Coxsackie et poliomyélitiques.
Ann. Inst. Pasteur, 1951, **80**, 678-679.
624. Levaditi (C.), Vaisman (A.). — Y a-t-il possibilité de symbiose entre le virus Coxsackie et celui de l'encéphalite de Theiler ?
Ann. Inst. Pasteur, 1951, **81**, 207-210.
625. Levaditi (C.), Vaisman (A.). — Symbiose entre le type B encéphalitogène du virus Coxsackie et celui de la fièvre aphteuse neurotrope.
Ann. Inst. Pasteur, 1951, **81**, 210-213.
626. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Dunoyer (F.). — Symbiose des virus Coxsackie et de Nicolas-Favre.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1951, **233**, 1234-1236.
627. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Henry-Eveno (J.). — Symbiose des ultra-virus neurotropes. Association entre les virus Coxsackie encéphalitogènes et le virus de l'herpès.
Rev. Immunol. (Paris), 1952, **16**, 117-138.

628. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Henry-Eveno (J.). — Symbiose entre le virus de Coxsackie souche encéphalitogène et le virus de la rage des rues (souche Tanger).
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 499-502.

629. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Henry-Eveno (J.). — Symbiose entre le virus de Coxsackie, souche encéphalitogène et le virus rabique fixe.
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 502-505.

630. Levine (S.), Goldblum (N.), Friedman (E.). — Virologic findings and antibody response of newborns fed multiple type oral poliomyelitis vaccine.
Amer. J. Hyg., 1961, **74**, 95-102.

631. Levine (S.), Goldblum (N.), Moscovici (O.), Horetzky (R.). — A small — scale field trial with a type 3 attenuated poliovirus in a communal settlement.
Amer. J. Hyg. 1961, **73**, 10-19.

632. Lim (K.A.), Benyesh-Melnick (M.). — Typing of viruses by combinations of antiserum pools. Application to typing of enteroviruses (Coxsackie and ECHO).
J. Immunol., 1960, **84**, 309-317.

633. Lippi (M.), Sebastiani (A.), Balducci (M.). — Contributo sieroimmunalogico alla conoscenza delle principali virosi. Ricerca nei soggetti sani degli anticorpi devianti il complemento verso i virus Coxsackie di gruppo B.
Arch. ital. Sci. med. trop., 1960, **41**, 113-150.

634. Lycke (E.). — Interference between poliomyelitis virus and Coxsackie B or ECHO viruses.
Arch. ges. Virusforsch., 1958, **8**, 351-359.

635. Makower (H.), Skurska (Z.). — Badania nad wirusami Coxsackie Doniesienie. III. Izolacja virusa Coxsackie z nozgu lisa.
Arch. Immunol. Ter. Dosw., 1957, **5**, 219-224 (in Gelfand, 587).

636. Manire (G.P.), Sulkin (S.E.), Farmer (T.W.). — Complement fixation with Coxsackie virus.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1950, **73**, 341-343.

637. Maurin (J.), Mme Virat (J.), Mme Carré (M.C.). — Etude en cultures cellulaires des virus entériques de l'homme en 1959 et 1960.
Ann. Inst. Pasteur, 1961, **101**, 629-639.

638. Melnick (J.L.), Agren (K.). — Poliomyelitis and Coxsackie viruses isolated from normal infants in Egypt.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 621-624.

639. Melnick (J.L.), Dow (R.P.). — Poliomyelitis in Hidalgo Country, Texas, 1948. Poliomyelitis and Coxsackie viruses from flies.
Amer. J. Hyg., 1953, **58**, 288-309.

640. Melnick (J.L.), Emmons (J.), Coffey (J.H.), Schoof (H.). — Seasonal distribution of Coxsackie viruses in urban sewage and flies.
Amer. J. Hyg., 1954, **59**, 164-184.

641. Melnick (J.L.), Kaplan (A.S.). — Quantitative studies of virus-host relationship in chimpanzees after inapparent infection, virus carrier state and development of neutralizing antibodies.
J. exp. Med., 1953, **97**, 367-400.

641 bis. - Melnick (J.L.), Kraft (L.M.). — Differentiation of immunological types among the Coxsackie viruses.
Fed. Proc., 1950, **9**, 585-591.

642. Melnick (J.L.), Ledinko (N.). — Immunological reactions of Coxsackie viruses, neutralization test: technic and application.
J. exp. Med., 1950, **92**, 463-482.

643. Melnick (J.L.), Penner (L.R.). — The survival of poliomyelitis and Coxsackie viruses following their ingestion by flies.
J. exp. Med., 1952, **96**, 255-271.

644. Morris (J.A.), O'Connor (J.R.). — Neutralization of the viruses of the Coxsackie group by sera of wild rabbits.
Cornell Vet., 1952, **42**, 56-61.

645. Munch (B.S.). — On the specificity of complement fixation tests for typing of Coxsackie virus strains.
Acta path. microbiol. scand., 1962, **56**, 89-104.

646. Munch (B.S.), Magnus (H. von). — On the preparation of complement fixing antigens for routine typing of Coxsackie viruses.
Acta path. microbiol. scand., 1960, **50**, 55-63.

647. Okuno (T.), Ogata (T.), Ito (T.). — The application of complement fixation test with one-day mouse brain antigen for the diagnosis of infection and the identification of Coxsackie group B type 5 virus.
Jap. J. med. Sci. Biol., 1961, **14**, 139-142.

648. Paffenbarger (R.S.), Berg (G.), Clarke (N.A.), Stevenson (R.E.), Pooler (B.G.), Hyde (R.T.). — Viruses and illnesses in a boys' summer camp.
Amer. J. Hyg., 1959, **70**, 254-274.

649. Pohjanpelto (P.), Vuopio (P.). — The Coxsackie group of viruses. Epidemiological studies.
Ann. Med. exp. Fenn., 1955, **33**, 75 p.

650. Pohjanpelto (P.), Vuopio (P.). — Coxsackie antibodies in domestic animals and Norway rats.
Ann. Med. exp. Fenn., 1956, **34**, 390-392.

651. Ramos Alvarez (M.). — Cytopathogenic enteric viruses associated with undifferentiated diarrheal syndromes in early childhood.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, **67**, 326-331.

652. Ramos Alvarez (M.), Alvarez Amezquita (J.), Pelon (W.), Michaels (R.H.), Spigland (I.), Koch (M.), Barnes (J.), Rhim (I.). — [Effects of the rapid collective immunization with oral live poliomyelitis virus vaccine of a population with widespread enteric infections with other viruses.]
Bol. Ofic. sanit. panamer., 1961, **51**, 104-112.

653. Ramos Alvarez (M.), Sabin (A.B.). — Intestinal vira flora of healthy children demonstrable by monkey kidney tissue culture.
Amer. J. publ. Hlth., 1956, **46**, 295-299.

654. Ramos Alvarez (M.), Sabin (A.B.). — Enteropathogenic viruses and bacteria. Role in summer diarrheal diseases of infancy and early childhood.
J. Amer. med. Ass., 1958, **167**, 147-156.

655. Rhodes (A.J.), Clark (E.M.), Wood, Shimada (F.T.), Silverthorne (N.), Mc Kendry (J.B.), Duncan (D.), Anglin (C.S.). — Studies on poliomyelitis in Ontario. VI. Additional laboratory studies on cases of clinical poliomyelitis excreting Coxsackie virus.
Canad. med. Ass. J., 1953, **68**, 438-443.

656. Riggs (J.L.), Brown (G.C.). — Application of direct and indirect immunofluorescence for identification of enterovirus and titrating their antibodies.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, **110**, 833-837.

657. Riggs (J.L.), Brown (G.C.). — Differentiation of active and passive poliomyelitis antibodies in human sera by indirect immunofluorescence.
J. Immunol., 1962, **89**, 868-873.

658. Riordan (J.T.), Paul (J.R.), Yoshioka (I.), Horstmann (D.M.). — The detection of poliovirus and other enteric viruses in flies. Results of tests carried out during an oral poliovirus vaccine trial.
Amer. J. Hyg., 1961, **74**, 123-136.

659. Rivadeneira (J.C.), Crea (M.A.), Robbins (F.C.). — The widespread presence of group B Coxsackie viruses in the gastro-intestinal tracts of normal children in an orphanage.
Amer. J. Dis. Child., 1957, **93**, 73-74.

660. Rivadeneira (J.C.), Robbins (F.C.), Crea (M.), Eiben (R.M.). — The distribution of group B Coxsackie viruses in a Children's institution.
Pediatrics, 1957, **20**, 468-476.

661. Robba (L.), Virat (J.). — Préparation d'antigènes pour la déviation du complément dans le diagnostic sérologique des affections à virus Coxsackie groupe B.
Ann. Inst. Pasteur, 1960, **99**, 784-791.

662. Rogers (N.G.), Bankhead (A.S.), Crawford (I.P.), Meyer (H.M.J.). — Metabolic inhibition test for determination of antibodies to group B Coxsackie viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **98**, 227-231.
663. Sabin (A.B.). — The significance of viruses recovered from the intestinal tracts of healthy infants and children.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1956, **66**, 226.
664. Sabin (A.B.). — Status of field trials with an orally administered live attenuated polio virus vaccine.
J. Amer. med. Ass., 1959, **171**, 863-868.
665. Sacerdote de Lustig (E.), Brieux (S.). — Estudio preliminar de interferencia entre el virus de Coxsackie y virus poliomielitico sobre cultivos de celulas Hela.
Rev. Soc. argent. Biol., 1956, **32**, 156-162.
666. Sacerdote de Lustig (E.), Brieux (S.). — Interférence entre les virus de Coxsackie et de poliomyélite sur les cultures de cellules Hela.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1956, **50**, 2017-2018.
667. Sakurada (N.), Prince (A.M.). — Characteristics of disc assay for enterovirus antibody.
Jap. J. exp. Med., 1961, **31**, 179-186.
668. Schmidt (N.J.), Lennette (E.H.). — Recent advances in the sero-diagnosis of virus infections.
Prog. med. Virol., 1961, **3**, 1-58.
669. Schmidt (N.J.), Midulla (M.), Lennette (E.H.). — A colorimetric method for the typing of Coxsackie viruses of Group B and certain members of Group A.
J. Immunol., 1958, **80**, 454-462.
670. Schwab (M.), Allen (R.), Sulkin (S.E.). — Tropical rat mite (Liponyssus Bacoti) as an experimental vector of Coxsackie virus.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 1952, **1**, 982-986.
671. Selwyn (S.), Howitt (L.F.). — A mosaïc of enteroviruses, Poliovirus, Coxsackie, and ECHO infections in a group of families.
Lancet, 1962, **2**, 548-551.
672. Shaw (E.D.), Newton (A.), Powell (A.W.), Friday (C.J.). — Fluorescent antigen-antibody reactions in Coxsackie and ECHO enteroviruses.
Virology, 1961, **15**, 208-210.
673. Stanley (N.F.). — Attempts to demonstrate interference between Coxsackie and poliomyelitis viruses in mice and monkeys.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 430-433.
674. Stanley (N.F.), Dorman (D.C.), Ponsford (G.). — Virus neutralizing antibodies in pooled human serum.
J. Immunol., 1953, **71**, 402-409.
675. Sulkin (S.E.), Wallis (C.), Murphy (T.P.). — Mixed infections with Coxsackie and Lansing poliomyelitis viruses in mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1953, **84**, 184-188.
676. Taylor (R.M.). — The isolation of Coxsackie and unidentified viruses from human blood and mosquitoes.
Proc. 6 th. int. Cong. Microbiol., 1955, **3**, 236-240.
677. Taylor (R.M.), Hurlbut (H.S.). — The isolation of Coxsackie — like viruses from mosquitoes.
J. Egypt. med. Ass., 1953, **36**, 489-494.
678. Thiry (L.), Nihoul (E.), Reginster (M.), Dekegel (D.). — Les entérovirus non poliomyélitiques isolés en Belgique depuis le mois de janvier 1961.
Brux. méd., 1963, **1**, 207-216.
679. Turrisi (E.). — Interferenza dei virus C L M e T C L M di fronte al virus coxsackie tipo B (ceppo B1).
Riv. Ist. sieroter. ital., 1959, **34**, 202-205.
680. Vandeputte (M.). — L'endémicité des virus entériques à Léopoldville (Congo).
Bull. O.M.S., 1960, **22**, 313-318.
681 Vargosko (A.J.). — New techniques used in detection of viruses.
Clin. Proc. Child., Hosp. (Wash.), 1962, **18**, 33-44.

682. Verlinde (J.D.), Versteeg (J.), Beeuwkes (H.). — Mogelijkheid van een besmetting van de mens door vorkens lijdende aan een Coxsackie — virus pneumonie.
Ned. T. Geneesk., 1958, **102**, 1445-1447 (*in* Gelfand, 587).
683. Walton (M.), Melnick (J.L.). — Coxsackie virus antibody and incidence of minor illness during the Summer.
Publ. Hlth. Rep. (*Wash.*), 1953, **68**, 1167-1178.
684. Ward (R.). — Poliomyelitis and Coxsackie viruses from Egyptian flies.
Fed. Proc., 1952, **11**, 486.
685. Weigand (H.). — Interference between Coxsackie viruses in mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (*N.Y.*), 1959, **101**, 103-106.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

Historique 3

Première Partie : Etude biologique des virus coxsackie B

Chapitre I : Caractères morphologiques et propriétés physico-chimique 13

Chapitre II : Caractères culturaux des virus Coxsackie B. Rapports virus-cellules hôtes 21

Chapitre III : Le pouvoir antigénique 51

Chapitre IV : Le pouvoir pathogène expérimental 57

Deuxième Partie : Etude clinique des infections a virus coxsackie B

Chapitre I : La maladie de Bornholm 95

Chapitre II : L'atteinte cardiaque 105

Chapitre III : Les infections du système nerveux 129

Chapitre IV : Autres manifestations de l'infection à virus Coxsakie B . . 147

Troisième Partie : Epidémiologie et phisiopathogénie des infections a virus coxsackie B

Chapitre I : Epidémiologie des maladies à virus Coxsakie B 165
Diffusion des virus Coxsackie B chez l'homme sain 172

Chapitre II : Rapports des virus Coxsackie B avec les autres virus 181

Chapitre III : Sources, transmission et diffusion dans l'organisme des virus Coxsackie B 191

Quatrième Partie : Diagnostic, pronostic et traitement

Chapitre I : Diagnostic 205

Chapitre II : Pronostic et traitement 223

Conclusion 225

Bibliographie 227

Vu

Nancy, le 6 Avril 1965.

Le Président de thèse.

Pr de LAVERGNE.

Vu et approuvé

Nancy, le 6 Avril 1965.

Le Doyen,

Pr A. BEAU.

Vu et permis d'imprimer,

Nancy, le 7 Avril 1965.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université.

P. IMBS.

Imprimerie LEMOY
32 ter, Place des Vosges
Tél. 52.83.36 NANCY

IMPRIMERIE LEMOY
32 ter, Pl. des Vosges
NANCY - Tél. 52.03.36